

Jean-Paul COPPIN

N° 45

**REACTIONS IMMUNOLOGIQUES AU COURS DE
CERTAINES INFECTIONS A CHLAMYDIAE**

ESSAI DE MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
AMIENS – NOV. 1973

A MON PRESIDENT DE THESE

Mademoiselle le Professeur J. ORFILA

Professeur de Bactériologie-Virologie et Immunologie

Biologiste des Hôpitaux

Chevalier de l'Ordre des Palmes Académiques.

Vous me faites l'honneur de présider cette
thèse. Vos conseils, votre confiance et votre
sympathie m'ont permis de mener à bien cet
ouvrage, ce dont je vous remercie.

Recevez l'expression de mon plus profond
respect.

A MES JUGES,

Monsieur le Professeur LEVI-VALENSI

Agrégé de pneumo-phtysiologie

Votre ouverture d'esprit et votre besoin de diffuser vos connaissances m'ont amené à beaucoup vous apprécier.

Recevez mon profond respect.

Monsieur le Professeur DANIEL

Agrégé de bactériologie-virologie

Je vous remercie d'avoir accepté d'être de mes juges.

Recevez ma profonde gratitude pour l'intérêt que vous portez à cet ouvrage.

A Monsieur le Professeur QUICHAUD

Le souvenir de mes années passées dans votre service me restera toujours à l'esprit.

J'ai pu apprécier vos grandes qualités humaines et pédagogiques. Elles sont la base même de ma formation médicale.

Recevez ma profonde reconnaissance et mon profond respect.

A mes Maîtres dans les hôpitaux,

A Monsieur Le Docteur THUILLIEZ,

A Monsieur Le Docteur TAHON,

A Monsieur Le Docteur MICHEL,

A Monsieur Le Docteur MASSARD,

A Monsieur Le Docteur LENOTTE.

Vous avez participé à ma formation médicale. Vos
contacts avec le malade m'ont beaucoup marqué.
Recevez toute ma gratitude.

I N T R O D U C T I O N

-:-:-:-:-

Les chlamydiaceae provoquent de nombreuses infections répandues dans le monde animal et humain. Ces micro-organismes sévissent pour une grande part dans des zones endémiques où, les infections sont graves, sont chroniques et rechutent aisément.

La pathogénie et l'immunité de ces maladies sont très mal connues. De plus, il n'existe pas encore de traitement ou de prophylaxie permettant d'espérer leur éradication complète.

Nous proposons ici un bilan bibliographique concernant l'immunologie des principales infections à chlamydiaceae, en soulignant que nous rapportons l'état actuel des connaissances à ce sujet, et qu'aucune expérimentation personnelle n'a été effectuée. La gamme des infections à chlamydiaceae étant très large, nous n'avons choisi pour notre étude que les infections en relation avec l'homme.

Dans un premier chapitre, nous rappellerons les généralités sur les chlamydiaceae et sur les maladies qui en dépendent. Dans un deuxième chapitre, nous ferons le point des techniques et des résultats immunologiques et sérologiques.

C H A P I T R E 1

GENERALITES SUR LES CHLAMYDIACEAE

1. TAXONOMIE
2. STRUCTURE ET MORPHOLOGIE
3. COMPOSITION CHIMIQUE
4. CYCLE DE DEVELOPPEMENT
5. MECANISME DE REPRODUCTION
6. PATHOLOGIE DES PRINCIPALES INFECTIONS
7. NOTIONS DE TRAITEMENT
8. METHODES DE CULTURE ET DE PURIFICATION

TAXONOMIE

Les chlamydiaceae sont maintenant considérées comme des bactéries, mais elles possèdent quelques caractéristiques communes aux virus. On les rapproche des Rickettsies ; d'ailleurs, la classification de Bergey modifiée par PAGE en 1966 les place dans l'ordre des Rickettsiales et dans la famille des chlamydiaceae.

Sous ce terme de chlamydiaceae, PAGE regroupe tous les "agents" ayant une structure, un cycle de développement et des caractéristiques identiques, et responsables de différentes maladies chez les oiseaux et les mammifères, dont l'homme. Autrefois ces germes étaient assimilés aux myxobactéries, et éventuellement on les identifie sous le vocable de Bedsoniae ou encore Néo-Rickettsiae. (tableau 1).

Il y a donc dans le genre chlamydiaceae un certain nombre de germes responsables de différentes affections. On dénomme chaque microbe par le terme "agent" suivi du nom de la maladie. MOULDER (52) a dénombré les agents les plus importants du Groupe. (tableau 2).

Ils sont regroupés sous le terme "PLT" (psittacose - lymphogranulomatose vénérienne - Tric).

A l'intérieur de ce groupe, trachome et conjonctivité à inclusions sont regroupés sous le terme TRIC.

LIN et MOULDER et d'autre part GORDON et QUAN en 1965 ont divisé ce groupe PLT en 2 sous-groupes A et B suivant 5 critères :

GORDON et QUAN
(25) { - aspect compact ou diffus de l'inclusion
{ - présence ou non de glycogène (ce glycogène
{ serait d'origine parasitaire et non produit
(par l'hôte).

LIN et MOULDER { - Degré de sensibilité à la sulfadiozine
{ - Degré de sensibilité à la D Cyclosérine
{ - Effet de la D Alamine Antagoniste de la
(D cyclosérine.

Il se trouve que ces 5 critères concordent pour la division en 2 sous-groupes. (Tableau 3).

Remarques concernant le tableau de GORDON et QUAN :

- les inclusions compactes sont caractéristiques des germes les moins virulents et contiennent toujours du glycogène.
- le sous-groupe A ne comporte que des souches concernant les mammifères.
- le sous-groupe B comprend des souches concernant mammifères et oiseaux.

On peut maintenant réaliser une classification sérologique de ces différents agents ; c'est ce qu'ont d'abord tenté FRASES et BERMAN et d'autre part SCHACHTER. Nous étudierons plus loin dans notre étude les limites de l'actuelle classification sérologique. Signalons tout de suite qu'elle est superposable à la classification de GORDON et QUAN.

FAMILLE	GENRE	ESPECE	DENOMINATION ANCIENNE de BERGEY
<u>RICKETTSIACEAE</u>			
	COLESTIA	CONJUNCTIVAE	
	RICOLESIA	CONJUNCTIVAE	
	COLETTISIA	PECORIS	
<u>CHLAMYDIACEAE</u>			
		TRACHOMATIS	C. TRACHOMATIS C. OCULO GENITALIS M. LYMPHOGRANULOMATIS M. AERONCHO PNEUMONIAE
	CHLAMYDIA		M. PSITTACI M. GRANITHOSIS M. FELIS M. LOUISIANAE M. ILLINOIS M. OPPOSUMI M. OVIS M. BOVIS M. PECORIS
<u>QARTONELLACEAE</u>			

TABLEAU 1: ORDRE des RICKETTSIALES
CLASSIFICATION de BERGEY (1957)
MODIFIEE PAR PAGE (1966)

AGENTS des OISEAUX	AGENTS des MAMMIFÈRES	AGENTS de L'HOMME
PSITTACOSE	MÉNINGO - PNEUMONIE PNEUMONIE de la SOURIS PNEUMONIE des FELINS ENTERITE BOVINE ENCEPHALITE BOVINE AVORTEMENT de la GRESSIS PNEUMONIE des MOUTONS	LYMPHOGRANULOMATOSE VÉNÉRIENNE TRACHOME CONJONCTIVITE à INCLUSIONS PNEUMONIE
ORNITHOSE		

TABLÉAU 2 : PRINCIPAUX AGENTS du GENRE CHLAMYDIA
SELON MOULDER.

AGENTS	NATURE de l'INCLUSION		SENSIBILITÉ			D ALANINE D CYCLOSERINE	
	MORPHOLOGIE	PRÉSENCE du GLYCOSÈNE	SULFADIAZINE	D CYCLO-SÉRINE			
A	TRACHOME	+	+	+++		+	
	L.S.V.	+	+	+++		+	
	CONJONCTIVITE à INCLUSIONS	+	+	++		+	
	PNEUMONIE de LA SOURIS	+	+	+++		+	
	PNEUMONIE du HAMSTER	+	+	+++		+	
B	MÉNINGO PNEUMONIE	0	0	+		++	
	PNEUMONIE des FELINS	0	0	+		+++	
	CONJONCTIVITE du COBAYE	0	0	+		++	
	ORNITHOSE du PIGEON	0	0	+		+++	
	PSITTACOSE	0	+	+		+++	
	ENCÉPHALOMYÉLITE BOVINE	0	0	+		+	

TABLEAU 3 : CLASSIFICATION des AGENTS en 2 SOUS-GROUPES A et B

STRUCTURE et MORPHOLOGIE

MORPHOLOGIE

Ce sont des germes immobiles. Ils sont ovoïdes ou sphériques.

Leur taille varie de 0,25 à 1 micron.

Ils ne prennent pas le GRAM.

Ils sont mis en évidence par les colorants basophiles (tableau 4).

Ils sont très fragiles, peu résistants à la chaleur et aux U. V.

Ce sont des parasites intra-cellulaires obligatoires.

Ils se développent à l'intérieur du cytoplasme de la cellule hôte, selon un cycle.

Ils forment ainsi une véritable colonie appelée inclusion.

Le contenu de cette inclusion est soit diffus, soit compact..

STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE (24 - 31 - 22 - 3 - 4)

L'inclusion à l'intérieur d'une cellule hôte englobe une population de petites particules. Ces particules peuvent se regrouper en trois types :

- Le corps élémentaire

C'est le plus petit élément : 0,2 à 0,4 micron comportant un nucléoïde dense aux électrons et une zone bordante granuleuse.

- Le corps intermédiaire

Il s'agit de la même structure que le corps

NOM	CORPS	FOND	COLORATION
MACHIAVELLO	ROUGE	BLEU	FUSCHINE BASIQUE - DIFFÉRENCIATION ACIDE CITRIQUE CONTRASTÉE AU BLEU DE MÉTHYLENE.
STAMP	ROUGE	BLEU	FUSCHINE PHÉNOLIQUE DE ZIEHL - DIFFÉRENCIATION ACIDE CITRIQUE CONTRASTÉE AU BLEU DE MÉTHYLENE.
CASTANEDA	BLEU	ROSE	COLORATION A L'AZUR II EN MILIEU BASIQUE DIFFÉRENCIATION A LA SAFRANINE.
GIMENEZ	ROUGE	VERT	FUSCHINE BASIQUE CONTRASTÉE PAR VERT MALACHITE.
STARR	VERT	JAUNE	COLORATION A L'ACRIDINE ORANGE
MAY-GRUNWALD-GIEMSA	ADN POURPRE ARN BLEU		MELANGE DES 3 COLORANTS
RICE	INCLUSIONS MARRON	CLAIR	COLORATION A L'IODE.

TABIEAU 4 : COLORATIONS USUELLES PERMETTANT DE DISTINGUER LES INCLUSIONS.

élémentaire, mais le nucléoïde est central et la taille est d'environ 0,45 micron.

- Le corps initial, grosse particule dont la taille peut atteindre 1 micron. Il ne possède pas de nucléoïde, mais des structures granuleuses et fibrillaire denses.

L'étude de la structure membranaire fait actuellement l'objet d'un problème important (34 - 48 - 70)

ERLANDSON et ALLEN (22) ont décrit une seule membrane (unit membrane) autour des corps élémentaires et initiaux (étude sur méningo-pneumonie).

MITSUI et COLL ont décrit une double membrane autour des corps initiaux et une seule autour des corps élémentaires (étude sur l'agent du trachome).

ANDERSON et COLL ont confirmé, sur l'agent de l'ornithose, l'existence d'une membrane sous laquelle se trouve une membrane cytoplasmique qui est rarement visualisée.

Le problème est important, car cette caractéristique permet de rapprocher les chlamydiae des bactéries, d'autant plus que la multiplication de ces agents est inhibée par des antibiotiques tels que la penicilline et la D cyclosérine qui agissent par inhibition de la synthèse de la membrane mucopeptidique.

En fait, la présence de deux membranes pour le corps élémentaire est actuellement très discutée, elle est certaine pour le corps initial.

D'autre part, PERKINS et ALLISON ont signalé la présence d'acide muramique, dans la membrane de 4 agents.

Des enveloppes de l'agent méningo-pneumonie ont été détruites par la muramidase (46 - 47).

COMPOSITION CHIMIQUE

- 1) Chaque particule possède les deux acides nucléiques ARN et ADN (62 - 63) dont la répartition à l'intérieur du corps varie en fonction des stades du cycle de développement. Le corps initial possède plus d'ARN que d'ADN. Le corps élémentaire possède plus d'ADN que d'ARN (65). La présence des 2 A. N. rapproche des rickettsies. Pour le corps initial les A. N. se présentent sous forme de filaments tortueux à travers tout le cytoplasme, et pour le corps élémentaire sous forme de filaments concentrés au niveau du nucléoïde. En ce qui concerne l'ARN, on trouve 3 composants de sédimentation : 21S, 16S, 4S. Certaines observations montrent la présence de ribosomes (65). ceci est discuté pour d'autres agents.
- 2) Les glucides sont représentés essentiellement par des hexosamines, les lipides par des phospholipides et des graisses neutres. On a dénombré 18 acides aminés. MOULDER a résumé de la méningo-pneumonie les proportions de cette composition chimique. (tableau 5).
- 3) Enfin, il existerait une activité enzymatique (métabolisme du glucose).

COMPOSITION CHIMIQUE
de L'AGENT de la MENINGO-PNEUMONIE
(MOULDER 1964)

PROTEINES	35 %
HEXOSAMINES	0,6 %
SUCRES REDUCTEURS	41 %
DNA	3,5 %
RNA	22,7 %
PHOSPHOLIPIDES	7,5 %
CHOLESTEROL	0
AUTRES LIPIDES	40 %

TAB. LEAU 5

CYCLE DU DEVELOPPEMENT

Ce cycle a été étudié par différents auteurs sur de nombreux agents du groupe (6 - 43 - 50).

- 1) Nous prendrons comme cycle de description l'agent de la psittacose cultivé sur macrophage de souris (LEPINAY, ORFILA 1970). (57-58).

La souche de chlamydia psittaci provient de l'Institut d'hygiène de l'Université d'Amsterdam. Les macrophages de souris sont prélevés par lavage de la cavité péritonéale. Les cellules isolées sont réparties dans des flacons et mises en culture pendant 48 heures. On les recouvre ensuite d'une certaine quantité d'inoculum pendant 1 heure à 37°. Cet inoculum provient ou de cellules HeLa ou d'un broyat de sac vitellin d'oeuf embryonné. L'excès d'inoculum est ensuite rejeté, les cultures sont lavées et recouvertes d'un milieu d'entretien. Les cellules sont ensuite prélevées fixées et colorées. La fixation se fait au glutaraldhyde, puis au tetroxyde d'osmium. Ensuite les préparations sont visualisées au microscope électronique à des temps variables

- 2) A la 6ème heure : les cellules ne semblent pas parasitées, à l'exception de quelques unes qui possèdent des particules vacuolisées au sein du cytoplasme et disposées en couronne autour de l'appareil de Golgi.

A la 12ème heure : On observe des particules arrondies périnucléolaires, groupées par deux ou quatre et correspondant aux corps initiaux.

A la 24ème heure : Le nombre et la taille de ces corps initiaux augmentent. Les vacuoles qui entouraient chacun de ces corps s'anastomosent et forment une seule vacuole composée au moins d'une quinzaine d'éléments. Il s'agit là d'une inclusion. A ce stade, apparaissent des éléments donnant l'impression d'une fission binaire.

A la 30ème heure : Présence de corps initiaux et de corps élémentaires. On ne voit pas de corps intermédiaires.

A la 48ème heure : On trouve plusieurs inclusions contenant les 3 types de particules déjà décrites. Les corps intermédiaires y sont présents en petits nombres.

A la 72ème heure : C'est à ce stade que l'on peut le mieux observer les 3 types de particules, on y voit une grande vacuole refoulant le noyau. Certaines vacuoles peuvent rompre et répandre leur contenu à l'extérieur de la cellule, celle-ci peut mourir en éclatant dans le liquide.

3) Nous ferons plusieurs remarques à propos de ces observations :

- Aucune image de pénétration cellulaire du germe n'a pu être décrite.
- La chronologie d'apparition du corps est difficile à préciser.
- Les 3 formes de corps ont-ils tous un pouvoir infectieux?
- Le mode de division par fission binaire semble être le plus important, mais il n'est pas le seul.
- Précisons le rôle important de la cellule hôte. Les

plus utilisées sont les fibroblastes, les cellules épithéliales et les macrophages. De ces cellules dépendent la morphologie de l'inclusion et l'action lytique du germe.

- nous ne savons pas encore expliquer par quel processus survient la mort cellulaire. S'agit-il d'une libération toxine ?

MECANISME DE REPRODUCTION

Il pose un problème non encore résolu comme nous l'avons vu au cours du cycle de développement, vers la 24ème heure on peut observer des images de division par fission binaire. En fait, il s'agit là d'un mode de reproduction principal, car certains auteurs ont observé des images d'endosporeulation.

NOTIONS DE PATHOLOGIE DES PRINCIPALES INFECTIONS

A CHLAMYDIACEAE

A -Psittacose :

L'agent de cette infection a été isolé en 1930 par BEDSON. Il donne une maladie ~~aviaire~~ transmissible à l'homme. Celui-ci s'infecte par inhalation de poussière infectée par les excréments des oiseaux.

Infection expérimentale :

Chez les Psittacidés inoculés par voie intra-musculaire, l'infection est mortelle avec lésions nodulaires nécrotiques du foie et de la rate, avec exsudat péritonéal et péricardique, avec des foyers d'entérite hémorragique.

Chez la souris inoculée par voie intra-péritonéale on obtient une péritonite exsudative mortelle en 8 à 10 jours ; inoculée par voie intra-cérébrale, on obtient une méningo-encéphalite mortelle en 5 à 6 jours.

Chez le singe, qui est très sensible à l'agent de la psittacose par voie respiratoire on obtient une pneumonie semblable à l'infection humaine.

Tableau clinique chez l'homme :

La contamination directe est accidentelle.

La maladie est quelquefois grave avec fièvre élevée, sueurs, céphalées, troubles de la conscience. La toux est sèche, non productive. Il n'y a souvent aucun signe à la percussion et à l'auscultation. Mais à la radio on trouve une opacité

triangulaire importante. Ce tableau déjà très sévère peut se compliquer de myocardite ou d'une encéphalite, rares, mais mortelles.

Actuellement on rencontre des tableaux cliniques beaucoup plus frustes, à type d'infection pseudogrippale bénigne, ou de simple bronchite.

La durée de la maladie est de plusieurs semaines, la convalescence est de plusieurs mois.

Diagnostic biologique :

Il se fait par la recherche directe de l'agent dans les crachats, dans les prélèvements de gorge, dans les prélèvements d'organes.

On colore les inclusions par le giemsa. Mais la meilleure technique est l'inoculation du produit pathologique dans le sac vitellin d'oeuf de poule embryonné. La méthode de mise en évidence des anticorps est très valable. On utilise le plus fréquemment la fixation du complément.

B - L'ornithose :

Les caractéristiques pathologiques de cette infection sont superposables à celles de la psittacose mais les manifestations pathologiques sont moins sévères. C'est une maladie aviaire transmissible à l'homme par inhalation de poussière infectée par les excréments d'oiseaux.

Infection expérimentale :

Elle donne les mêmes résultats cliniques et anatomiques chez les animaux de laboratoires que pour la psittacose. Cette affection atteint surtout le pigeon qui développe souvent une infection bénigne ou inapparente ; Le pigeon peut mourir

de méningo-encéphalite.

Tableau clinique chez l'homme :

Il est analogue à celui de la psittacose dans les cas sévères, mais souvent il prend l'allure d'une pneumonie atypique bénigne. Les formes inapparentes sont fréquentes.

Diagnostic biologique :

On utilise les mêmes méthodes que pour la psittacose.

C - La lymphogranulomatose vénérienne :

Elle est encore appelée maladie de Nicolas Fabre. Elle se localise au niveau de l'appareil génital, des ganglions et aussi au niveau des veines et des articulations.

La porte d'entrée est vénérienne, mais également oculaire.

Elle sévit principalement dans les pays tropicaux.

Infection expérimentale :

Le singe inoculé par voie préputiale ou ganglionnaire présente un chancre, et un bubon. La voie intracérèbrale donne une méningo-encéphalite.

Lésions histologiques :

A la phase aiguë il se produit une inflammation de type nodulaire avec nécrose suppurée entourée de cellules épithélioïdes, de cellules géantes et d'infiltrats lymphocytaires.

A la phase chronique, on trouve une sclérose hyperplasique.

Tableau clinique chez l'homme :

L'infection transmise par voie vénérienne ou oculaire donne un chancre herpétiforme fugace localisé au niveau du pénis, de la vulve, des muqueuses urétrales ou cervico-utérines.

Elle donne également une adénopathie inguinale (bubon) subaigue

et supurée.

Le chancre apparaît 10 à 30 jours après le contact. Le bubon inguinal apparaît deux à trois mois après l'infection.

L'adénite peut être bilatérale, peut s'abcéder ou se fistuliser. Les localisations veineuses ou articulaires, plus rares, apparaissent précocément. Enfin, il existe des complications pulmonaires et nerveuses exceptionnelles. L'évolution aboutit à des cicatrices scléreuses et adhérentes après des mois et des années.

Diagnostic biologique :

Il se fait soit par prélèvement de pus au niveau du bubon ou par raclage des lésions supurées, soit par mise en évidence des anticorps spécifiques.

La réaction de FREI est un test cutané d'allergie spécifique de cette maladie. Il se pratique entre la 5ème et la 10ème semaine **après** le début de l'infection. L'injection se fait par voie intradermique de 0,5 à 0,3 ml d'un antigène spécifique soit humain, soit animal, soit vitellin. La lecture se fait entre la 48ème et la 96ème heure. La réaction est positive lorsque se forme au lieu d'injection une papule rouge, indurée surélevée de 7 mm de diamètre environ, entourée d'une auréole érythémateuse. Le maximum de réaction se situe au 4ème jour.

D -Le trachome :

L'agent en cause rentre dans le cadre du groupe TRIC, à côté de l'agent de la conjonctivite à inclusions. HALBERSTAEDTER et PROWAZEK (1907) ont été les premiers à isoler ces inclusions par coloration au Giemsa.

Infection expérimentale :

Le singe développe une conjonctivite folliculaire sans pannus qui guérit en quelques mois.

La souris n'est pas réceptive. Des pneumonies ont été observées par inoculation intranasale ou intraveineuse.

Le lapin inoculé par voie oculaire donne une conjonctivite folliculaire. De plus, l'agent TRIC inoculé par voie I. D. donne une réaction locale proportionnelle à la dose.

Tableau clinique chez l'homme :

La maladie débute par une conjonctivite banale. A la période d'état il se forme des follicules sur la conjonctive palpébrale supérieure, avec extension à la cornée sous forme de pannus. A un stade plus tardive il se forme des cicatrices conjonctivales et cornéennes avec sclérose. L'évolution peut donner un ulcère cornéen avec cécité. Nous sommes en présence d'un tableau de kérato-conjonctivite spécifique transmissible d'homme à homme par contact direct.

Diagnostic biologique :

Les méthodes utilisées sont les mêmes que précédemment. On recherche les inclusions par raclage des lésions granulaires et coloration par le Giemsa. On peut également rechercher les anticorps par les méthodes sérologiques mais le taux obtenu est généralement peu élevé.

E - Conjonctivite à inclusions :

On tend actuellement à confondre cette infection avec le trachome et bon nombre d'auteurs en font sinon une même maladie, (35) du moins une maladie très proche. L'infection expérimen-

tale et superposable à celle du trachome.

Le tableau clinique comporte quelques différences :

Il s'agit d'une conjonctivite folliculaire d'évolution rapide avec guérison spontanée sans séquelle. Il n'existe pas de pannus, mais quelquefois une légère keratite. Une autre localisation de cet agent se situe au niveau du tractus urogénital ; Elle détermine une urétrite chez l'homme et une cervicite chez la femme.

Le diagnostic biologique est identique au trachome.

NOTIONS DE TRAITEMENT

Le traitement est dominé par les antibiotiques à large spectre. L'ornithose et la psittacose sont traitées par la tetracycline à la dose de 2 grammes par jour. Le traitement prophylactique consiste en la suppression des oiseaux de l'intérieur des habitations. La L. G. V. se traite par les tétracyclines et les sulfamides ; L'association à la corticothérapie n'est pas d'un effet négligeable. Dans le trachome et la conjonctivite à inclusions, on utilise les préparations locales de tétracycline et de sulfamide sous forme de pommades et collyres. Une tentative de mise au point de vaccin a été entreprise, nous le verrons dans un chapitre ultérieur.

METHODES DE CULTURE ET DE PURIFICATION DES AGENTS.

L'amélioration des techniques d'isolement, de culture et de purification a permis de faire de grands pas dans le domaine de la recherche immunologique.

A - Méthodes de culture :

a) Culture cellulaire :

FURNESS en 1960 réussit à maintenir indéfiniment des souches TRIC sur cellules HeLa. Il en fut de même pour BERNKOPF sur cellules amniotiques humaines et pour Mc COY sur cellules synoviales humaines.

La souche cellulaire la plus utilisée actuellement est la souche HeLa. Malheureusement toutes les souches ne sont pas capables de se multiplier en culture de tissu. REEVE et TAVERNE ont montré que les inclusions se formaient surtout pour les souches les plus virulentes pour l'embryon.

TREHARNE a même remarqué que la virulence augmentait après un certain nombre de passages.

Techniquement les cellules sont cultivées en flacon ou en tube. On utilise des milieux nutritifs qui varient selon le type cellulaire : par exemple, milieu synthétique de PARKER pour les souches continues, milieu de eagle pour les souches semi-continues.

b) Culture in ovo :

Elle a d'abord utilisée par T'ANG (67) en 1957, puis par COLLIER (15). L'agent est inoculé dans des sacs jaunes d'oeuf embryonné de 6 à 8 jours. La coquille de l'oeuf est

d'abord nettoyée à l'alcool iodé. L'inoculum de 0,1 à 0,5 ml de suspension microbienne est injecté par une aiguille fine enfoncée verticalement avec une profondeur de 2,5 cm. Les oeufs sont mis à l'étuve à 35°. Les embryons meurent en 48 à 72 heures. Stérilement, on détache la coquille, l'embryon est repéré, le sac vitellin est saisi et la membrane vitelline est extraite.

Signalons une différence entre les souches microbiennes : certaines sont appelées "fast-killing", car elles tuent, selon TAVERNE, l'embryon en 6 à 8 jours avec une dose de $2 \cdot 10^3$ LD 50 ; D'autres sont appelées "slow-killing", car la mort de l'embryon avec la même dose survient en 9 à 12 J. Dans les deux cas, le nombre d'inclusions est le même. Le rôle de la température est important. Les "fast killing" peuvent aussi bien pousser à 37° qu'à 35°, mais certains "slow killing" ne poussent qu'à la température stricte de 37°.

Enfin, quelques souches peuvent pousser dans la cavité allantoïdienne de l'oeuf.

B - Méthode de purification :

La purification consiste dans un premier temps à éliminer les constituants de la cellule hôte et dans un deuxième temps à séparer les différents types de particules de chlamydiae. Actuellement le premier temps s'opère par ultracentrifugation différentiel et ensuite par traitement enzymatique. La séparation des différentes particules s'effectue par ultracentrifugation en gradient de densité.

C H A P I T R E 11

SEROLOGIE ET IMMUNOLOGIE

1. STRUCTURE ANTIGENIQUE
2. METHODES D'INVESTIGATIONS
3. REPOSE IMMUNITAIRE
4. EXPERIMENTATIONS SUR LA VACCINATION

STRUCTURE ANTIGENIQUE DES CHLAMYDIACEAE

On entend par antigène tout constituant qui, par sa présence dans un organisme peut induire une réaction immunitaire à médiation humorale ou cellulaire. On peut classer les antigènes des chlamydiaceae en deux groupes :

- antigène d'espèce,
- antigène de groupe.
- Tous les anticorps du groupe chlamydia réagissent avec l'antigène dit de groupe.

Il est stable à la chaleur

de composition protéolipopolysaccharidique

inactivé par le périodate de K

localisé dans la paroi (34)

résistant aux enzymes protéolytiques.

- L'antigène d'espèce est thermolabile à 60°

est résistant au traitement par le périodate de K

est détruit par les enzymes protéolytiques,

les phénols et les acides.

On peut séparer les deux classes d'antigènes par l'action de certains agents chimiques (tableau 6).

Les principales techniques permettant d'identifier ces antigènes sont représentés par les tests de fixation du complément, d'immunofluorescence, de neutralisation. C'est l'immunofluorescence qui a permis de reconnaître les antigènes spécifiques de souches au sein même des différentes espèces.

Ainsi par exemple dans le groupe PLT, l'antigène de groupe donne des réactions croisées avec les anticorps de toutes les souches du groupe. Ce groupe comprend le sous-groupe A représenté par les agents TRIC et LGV, et le sous-groupe B représenté par les agents de la psittacose. L'antigène d'espèce donnera des réactions croisées positives soit au sein de l'espèce TRIC, soit au sein de l'espèce LGV, soit au sein de l'espèce psittacose. Mais une souche TRIC ne donnera pas de réaction avec un anticorps de l'espèce psittacose. Par contre, une quelconque souche TRIC donnera une réaction avec un anticorps d'une souche TRIC. Enfin, l'antigène de souche ne donne en général de réaction qu'avec l'anticorps de cette même souche. Nous verrons que cela n'est pas une règle absolue, quelquefois des réactions croisées sont possibles en dehors de ces limites.

AGENT CHIMIQUE	ANTIGÈNE de GROUPE	ANTIGÈNE d'ESPECE
iodure de K	DESTRUCTION	CONSERVATION
PAPAÏNE	CONSERVATION	DESTRUCTION
HCL DILUÉ	CONSERVATION	SOLUBILISATION
FLUOROCARBONE	SOLUBILISATION	CONSERVATION
ETHER	SOLUBILISATION	CONSERVATION
SULFATE DE LAURYLE de SOUDE	SOLUBILISATION	DESTRUCTION

TABEAU 6 : AGENTS CHIMIQUES PERMETTANT DE SÉPARER

ANTIGÈNES de GROUPE et ANTIGÈNES d'ESPECE

METHODES D'INVESTIGATION

Deux méthodes dominent notre étude : la fixation du complément et : l'immunofluorescence. Nous nous attarderons sur cette dernière qui s'avère être la méthode de choix.

Le test de prévention de la mort toxique chez la souris est aussi une technique qui rend beaucoup de services. Les tests de micro-agglutination et d'hémagglutination sont de peu d'intérêt.

Signalons dès à présent qu'il sera très souvent question du trachome au cours des expérimentations citées, car les autres infections sont peu étudiées sur le plan immunologique et sérologique. Le trachome est en effet la "maladie-pilote" dans le groupe des infections à chlamydiaceae et c'est pour elle qu'il faut prendre les mesures les plus urgentes afin de la combattre, d'après les dernières statistiques de l'O. M. S. on compte 400 000 000 de trachomateux dans le monde.

A - Fixation du complément :

1) Technique :

Elle met en présence

- un antigène connu et titré
- le sérum dans lequel on recherche la présence d'anticorps (ce sérum est décomplémenté).
- du complément (sérum de cobaye) dont le titre est connu
- des hématies de mouton et du sérum antihématies de mouton (sérum hémolytique).

On mélange antigène, sérum et complément, on met à

incuber à 37° pendant 30 mn, puis on ajoute les globules de mouton et le sérum hémolytique, on met à incuber pendant 15 à 30 mn.

S'il y a eu hémolyse cela indique que le complément était libre et qu'il n'a pas trouvé d'immunocomplexe capable de le fixer, donc le sérum à analyser ne contenait pas d'anticorps correspondant à l'antigène connu. Par contre s'il n'y a pas eu hémolyse, cela indique que le complément a été utilisé pour la formation d'un complexe antigène anticorps et le sérum à analyser contenait ces anticorps.

Les antigènes des agents sont préparés à partir de membranes vitellines ou de liquide allantoidien, ou encore de culture tissulaire. On peut également prélever l'agent de l'organe d'un animal (par exemple poumon de souris pour l'ornithose ou la psittacose).

2) Bilan des résultats concernant le trachome :

Les notions suivantes ont été développées dans un travail de J. ORFILA (9).

La réaction de déviation du complément fut l'une des premières méthodes sérologiques utilisées Elle établit la parenté antigénique entre les différents agents. Elle permet de distinguer antigène d'espèce et antigène de groupe, mais ne peut pas différencier les souches comme le permettent d'autres techniques (53). En effet, les sérums de sujets atteints de trachome, de LGV ou de psittacose et les sérums d'animaux immunisés contre ces mêmes agents

réagissent de la même façon au cours de notre réaction utilisant l'antigène de groupe. Cette méthode peut aussi différencier les antigènes spécifiques d'espèce pour la psittacose, l'ornithose, la LGV, mais n'est pas capable de séparer deux antigènes différents pour les agents du groupe TRIC.

a) antigène de groupe :

- Pour le trachome, l'homme ne développe jamais de taux d'anticorps élevé. Le maximum en est 1/64. Pour d'autres affections telles que LGV ou psittacose, le taux peut atteindre 1/2400.
- Un nombre élevé de sujets atteints d'un trachome cliniquement évident ne présentent pas d'anticorps déviant le complément (50 % pour d'ERNØ). Le fait que le titre soit peu élevé ou n'existe pas s'explique peut être par le fait que le trachome est une maladie purement locale et la stimulation antigénique est par conséquent faible. Nous préciserons ultérieurement ce problème.
- Il n'y a pas de corrélation entre le stade de la maladie et l'époque où le titre est le plus élevé.
- Le facteur géographique est très important, car le nombre des réactions positives varie beaucoup suivant les régions du globe. Ceci pourrait être expliqué par le fait qu'il existe des souches possédant une activité antigénique plus importante que d'autres.
- Il existe un nombre important de sujets antérieurement non atteints de trachome, et possédant une

réaction positive.

- Il y a donc peu de réactions positives et pour TERZIN Les anticorps de groupe ne représentent même pas ceux élaborés par l'antigène trachome ; pour cet auteur, le trachome est incapable d'élaborer un antigène de groupe et les réactions positives sont le fait de sujets ayant contracté auparavant une autre maladie du même groupe par exemple la LGV, en plus du trachome.

b) antigène d'espèce :

Il existe des anticorps non décelés par l'antigène de groupe et spécifiques d'espèces. Comme pour l'antigène de groupe 70 % de sujets trachomateux ne présentent pas d'anticorps déviant le complément.

L'évolution des anticorps au cours de la maladie trachomateuse a été étudiée par GRAYSTON (26). Cinq volontaires ont permis l'expérimentation. La souche utilisée est la TW 10. Les anticorps spécifiques d'espèce apparaissent 10 à 15 jours après l'inoculation. L'évolution du titre est variable d'un sujet à l'autre, mais le taux diminue toujours alors que la maladie est encore en phase active. On peut alors penser que les anticorps sont témoins de la maladie, mais qu'ils n'interviennent certainement pas comme système de défense contre celle-ci.

c) Conclusions :

La fixation du complément ne nous apporte que peu de choses par comparaison, comme nous le verrons avec les autres méthodes d'investigations. Nous ne pouvons pas déterminer la part de la maladie étudiée, puisque la réaction est une réaction de groupe. l'intérêt de cette méthode pour le diagnostic d'une maladie est donc presque nul, vu l'absence de spécificité. Même l'utilisation de l'antigène d'espèce n'est pas d'un grand intérêt, car les résultats obtenus indiquent une trop brève persistance des anticorps fixant le complément. L'étude de cette méthode nous enseigne au moins que la stimulation antigénique paraît faible et que les anticorps ne semblent pas faire barrage à l'évolution de la maladie.

B - Immunofluorescence :

a) Rappel des notions générales :

C'est une méthode d'investigation qui a permis de faire de grands progrès dans la recherche immunologique des infections à chlamydiaceae.

- Méthode directe :

La formation d'un immunocomplexe antigène-anticorps, donc le dépistage d'un anticorps dans un sérum ou l'identification d'un antigène par l'immunosérum correspondant peut être rendu visible en colorant l'un des éléments de la réaction : l'anticorps. On met en présence un antigène et un anticorps marqué. L'antigène est représenté par des coupes tissulaires ou des échantillons de microorganismes. On prépare les lames, on fixe par l'acétone ou l'ethanol ether ou encore le methanol. Puis ces lames sont colorées par une goutte d'antisérum fluorescent préalablement préparé. Elles sont ensuite lavées en solutions tampon, afin d'éliminer les dépôts de fluorochrome. On monte les lames en les recouvrant d'une goutte de glycérine. La lecture est faite en source lumineuse riche en U. V. Si le complexe antigène anticorps a lieu, il y aura fluorescence. Si le complexe n'a pas lieu, et donc s'il n'y a pas d'anticorps il n'y aura pas fluorescence.

Méthode indirecte :

Par la méthode directe une gamme très étendue d'antisérums est nécessaire, ce qui nécessite un travail très

long. Pour y remédier WATSON a imaginé la méthode indirecte. On prépare des antigammaglobulines fluorescentes d'homme ou d'animal ; Ainsi si le sérum contient des anticorps correspondant à l'antigène de la suspension, il y aura formation du complexe et fluorescence.

b) L'immunofluorescence à propos des chlamydiaceae :

Cette méthode a été appliquée à l'étude immunologique des chlamydiaceae dès 1955, et développée par COONS dans l'étude du trachome (17). On utilise le plus souvent l'isothiocyanate de fluoresceine. Les coupes de tissu ou de cellules infectées ou encore d'un microorganisme sont recouvertes du sérum marqué. L'antigène trachomatoux est extrait d'un raclage conjonctival ou d'une suspension de sac vitellin, ou encore d'une culture cellulaire. BERNKOPF en 1967 (9) a fait une mise au point concernant l'étude immunologique par la méthode d'immunofluorescence dans le trachome. Il montre qu'elle permet de détecter les antigènes et les anticorps et de les titrer .

1) Détection des antigènes :

a) Mise en évidence des inclusions :

La fluorescence nous montre avec une grande clarté la présence des inclusions de HALBERSTOEDTER-PROWZEK dans les cellules infectées. NICHOLS (1963) (54) sur 106 cas de trachome a confirmé la présence d'inclusions dans 28 %

des cas alors que le giemsa n'en a confirmé que 14 %. Il reconnut qu'on ne peut pas toujours par le giemsa identifier aussi bien la morphologie et la localisation intracellulaire des inclusions, que par la méthode de l'immunofluorescence. HANNA également l'a choisie comme une très bonne méthode. Sur 20 raclages conjonctivaux de patients atteints de trachome, cette méthode en a confirmé 14 alors que le giemsa n'en a confirmé que 6.

b) Différenciation antigénique :

L'immunofluorescence est capable d'identifier une souche et de tester sa parenté antigénique avec une autre souche. Un antigène connu réagit avec son anticorps correspondant : On appelle ceci réaction homologue. Mais il existe des réactions croisées, c'est à dire qu'un antigène connu donnera une réaction positive avec un anticorps correspondant à d'autres antigènes : on appelle ceci une réaction hétérologue. Ces notions précisées, nous allons étudier comment BERNKOPF et KATZENELSON (38) en 1964 ont différencié des souches du groupe PLT par la méthode directe. Nous en interpréterons les résultats.

Les souches utilisées sont 7 agents trachome (Dari et Camal isolés en Israël, T'ANG, G 17, Bour, Asgh, SA 1), l'agent LGV JACKSON et l'agent de la psittacose 6 BC. Toutes les souches ont poussé en sac vitellin. La purification a été effectuée par le fluorocarbène ou par colonne de cellulose DEAE.

Les antigènes sont inoculés chez le lapin par voie I. M. La technique directe d'immunofluorescence a d'abord été utilisée pour comparer les réactions des sérums de 7 lapins immunisés chacun par une souche, lorsqu'on met en présence ces sérums avec des souches homologues ou hétérologues (tableau 7).

On remarque que les antisérums TRIC réagissent à un taux à peu près égal avec toutes les souches TRIC et avec les 2 souches LGV. Donc parenté antigénique entre les souches TRIC et LGV. D'autre part il n'y a pas de réaction croisée entre les antisérums TRIC et la souche psittacose, ou entre l'antisérum psittacose et une quelconque souche TRIC ou LGV. La réaction des immuns sérums TRIC après absorption avec des souches homologues ou hétérologues montrent des relations antigéniques entre certaines souches et permet de classer les souches en groupes : Bour, T'ANG, Camal et Dari forment un groupe; Asgh, SA 1 et G 17 un second groupe. Les deux souches LGV sont indistinguables. En résumé BERNKOPF montre :

1) que des relations antigéniques existent entre les agents TRIC et LGV.

2) que les agents TRIC peuvent être divisés en 2 sous-groupes.

3) qu'il n'existe aucune relation antigénique entre l'ensemble TRIC LGV et l'agent de la psittacose.

4) que la souche de la conjonctivite à inclusions

IMMUN SERUM	AGENTS ou SOUCHES							P. 100 68C
	BOUR	T'ANG	DARI	CANAL	ASQH	SA 1	CT 3	
BOUR	640	640	640	640	640	640	640	<10
T'ANG	640	640	640	640	640	320	640	<10
CANAL	640	1280	1280	1280	640	1280	1280	<10
ASQH	320	640	640	640	640	640	640	<10
SA 1	640	320	640	640	640	640	-	<10
CT 3	320	320	320	640	320	320	640	<10
68C	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160

TABLEAU 7 : REACTIONS de SERUMS de LAPIN AVEC SOUCHES
PLT PAR METHODE DIRECTE
(ETUDE de BERNKOPF et KATZENELSON 1964)

montre des relations antigéniques avec les deux sous-groupes TRIC.

2) Détection des anticorps :

a) dans le sérum :

Des lames sont recouvertes de suspension d'antigène connu. Il est possible d'examiner le sérum d'un malade pour rechercher la présence, la nature et le titre d'un anticorps, en mettant en présence ces antigènes connus et le sérum à examiner. Les titres mesurés par la méthode indirecte sont 50 à 100 fois plus élevés que par la méthode directe. BERNKOPF (7) a infecté 3 volontaires par 3 souches de trachome. Le titre de 1/160 à 1/320 s'est développé en 7 semaines et a commencé à décroître après 18 semaines.

b) dans les sécretions conjonctivales :

C'est encore BERNKOPF qui a montré en 1965 (8) la présence d'anticorps fluorescent dans les larmes de sujets atteints de trachome. La présence d'anticorps locaux est très importante pour comprendre le processus immunologique des infections à chlamydiae.

On peut maintenant mieux isoler et purifier les antigènes, ceci a conduit WANG à mettre au point une microméthode.

c) Microméthode de WANG :

Il s'agit d'un artifice technique permettant de tester un grand nombre de sérums sur une même lame, alors qu'auparavant on ne pouvait en tester que 2 ou 3 par lame. (76)

- Préparation des lames :

Les antigènes sont préparés à partir de sac vitellin

infecté. Les antisérums de chaque souche à classer sont préparés par une injection I.V. chez la souris avec une suspension de 1 % de sac vitellin. Pour chaque souche 10 à 20 souris sont piquées 2 fois avec 0, 5 ml à une semaine d'intervalle. On recueille le sérum 10 à 11 jours après la première injection.

Pour placer les antigènes sur la lame, on utilise une pointe, des repères sont placés sous cette lame. On peut ainsi ranger jusqu'à 90 antigènes sur la même surface.

Ceux-ci sont placés en 9 groupes de 4 à 10. Une pointe neuve est utilisée pour chaque souche. On laisse sécher à l'air 30 mn et on fixe par l'acétone pendant 10 à 15 mn à la température du Laboratoire. Les sérums sont ensuite appliqués sur la lame. Des globulines anti-souris sont marquées à l'isothiocyanate fluorescent. La lecture des résultats se fait comme l'indique le tableau 8.

- Résultats a c

C'est donc une méthode qui permet de tester un grand nombre d'antigènes à la fois et qui est moins encombrante que la méthode classique. Les résultats sont les mêmes, mais dans une étude que WANG et GRAYSTON (75) ont effectué en 1970 concernant la classification des agents TRIC, on peut relever quelques éléments nouveaux.

Nous savons déjà qu'il est possible de classer ces agents en 2 sous-groupes. Jusqu'alors seul le test, de la prévention de la toxicité chez la souris avait permis de ranger les agents TRIC en 6 classes :

POSITION SUR LA LAME	A	2	3	4	5	6	7	8	9
DILUTION		4	8	16	32	64	128	256	512
ANTISÉRUM A	N - - A	- 3+	- 3+	- 3+	- 3+	- 2+	- 4+	- 1	- -
	C - - B	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -
ANTISÉRUM B	N - - A	- +	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -
	B - - C	- 3+	- 3+	- 3+	- 3+	- 2+	- 2+	- +	- -

TABLEAU 8 : LECTURE des RÉSULTATS PAR LA
MÉTHODE de WANG.

•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•
•	•	•	•	•	•	•	•

PRÉSENTATION DES ANTISÉRUMS
SUR LA LAME.

- Les classes ABC d'une part (groupe 1)
- Les classes DEF d'autre part (groupe 2)

A l'aide de 103 souches TRIC LGV, WANG et GRAYSTON retrouvent ces mêmes résultats, mais peuvent apporter quelques éléments nouveaux (tableau 9)

- Il y a des rapports immunologiques entre les classes A et C. Des souches A réagissent avec des anticorps C dans un pourcentage de 13 à 25 % par rapport au titre de la réaction homologue. Alors que l'anticorps A réagit avec les souches C dans un rapport de 6 % ou moins.
- Les souches de la classe F n'ont pas de réaction croisée avec les autres types.
- Les classes BDE et LGV ont tous des relations immunologiques entre elles.
- Une sous-classe B (Ba) montre des réactions croisées à 100 % avec certains antigènes des classes E, D et LGV ; mais leurs antisérums ne montrent pas d'importantes réactions croisées (13 %) avec l'antigène Ba.
- Comme les antisérums Ba, les deux classes D et E réagissent avec les souches LGV, comme avec leurs antisérums homologues ; Mais l'antisérum LGV ne réagit que très peu (6 à 13 %) avec l'antigène E et D.
- On range les souches LGV en 3 classes : 1, 2, 3.
Elles ont moins de réaction croisée entre elles qu'elles n'en ont avec D et E.

Au cours d'autres travaux, DWYER, TREHARNE, et JONES en

<u>ANTISERUM</u> <u>de souris</u>		<u>TRIC AGENTS</u>							<u>LGV AGENTS</u>		
<u>TRIC</u>	C	A	F	B	Ba	E	D	I	II	III	
C	100	13	0	0	0	0	0	0	0	0	
A	0	100	0	13	0	0	0	0	0	0	
F	0	0	100	6	0	6	0	0	0	0	
B	0	0	0	100	100	6-13	0-6	6	6-13	0	
Ba	0	0	0	100	100	50	100	100	100	100	
E	0	0	13	6	25	100	100	100	100	100	
D	0	0	13	26	13	25-50	100	100	50	50	
<u>LGV</u>	I	0	0	0	0	6-13	6-13	100	25-50	25	
II	0	0	0	0	13	6-13	6-13	13	100	13-25	
III	0	0	0	0	0	0	6	6-13	13	100	

TABEAU 2 : RÉACTIONS ANTIGÈNE - ANTICORPS AVEC TITRES
 EXPRIMÉS EN % PAR RAPPORT AUX RÉACTIONS
 HOMOLOGUES.

1972 proposent une nouvelle 7ème classe qu'ils appellent classe G et isolent 2 souches inclassables UW 4 et UW 12. Les anticorps G montrent un haut pourcentage de réactions croisés avec la classe F et LGV 3 (50 %). Les antigènes G montrent seulement 25 % de réactions croisées avec les anticorps F et LGV 3. Il s'agit d'une classe intermédiaire entre la classe F et la classe LGV 3.

d) Conclusions :

L'immunofluorescence rendue encore plus pratique par la méthode de WANG permet de retrouver les mêmes résultats obtenus par le test de prévention de la toxicité chez la souris, mais avec une facilité beaucoup plus grande. Nous pouvons classer les souches et tester les parentés antigéniques.

C'est une méthode précise et rapide pour la recherche, mais encore délicate pour l'établissement d'un diagnostic de routine.

C. Autres méthodes :

1) Test de neutralisation :

a) Principe de la méthode :

Ce test consiste à mettre en présence antigène et immun-sérum pour rechercher les anticorps qui neutralisent l'effet pathogène du microorganisme. Cette méthode est utilisée soit in vivo chez les animaux, soit in vitro : en culture de tissu.

b) Interêt de ce test :

Les anticorps neutralisants sont intéressants à étudier, car ils ont peut être un rôle dans l'immunité puisqu'ils inhibent la pathogénicité des microbes. D'autre part la neutralisation permet de distinguer les souches et d'étudier les relations antigéniques.

c) Expérimentations :

En 1962 REEVE et GRAHAM (59) mettent en présence séparément sur des cultures de cellules HeLa une souche de trachome, 2 souches de conjonctivite à inclusions et les sérums de lapin immun. Il en résulte que les sérums préparés avec la souche T'ang (trachome) neutralisent les agents de la conjonctivite. D'autre part les titres obtenus avec les souches homologues et hétérologues sont identiques. Ils ont été obtenus en comparant le nombre d'inclusions par le mélange agent-sérum en ml à celui obtenu par les cultures de contrôle. Les auteurs en déduisent une identité entre les 2 agents du trachome et de la conjonctivite.

En 1967, VERINI, ISETTA, et GHIONE ont étudié la réponse

des anticorps neutralisants chez le lapin à l'administration d'antigènes. Ils ont utilisé la souche cellulaire HeLa ensemencée avec la souche TE 55 du trachome. Ces animaux ont été vaccinés et leurs sérums ont été mis en présence des cultures cellulaires infectées.

Il en résulte que le nombre de lapin montrant une augmentation significative des anticorps neutralisants dépend de la concentration de vaccin injecté, mais le titre de chacun de ces animaux n'est pas plus élevé avec un vaccin concentré qu'avec un vaccin dilué.

D'autre part les auteurs n'ont pas trouvé de corrélation entre les anticorps neutralisants et les anticorps fixant le complément.

d) Conclusions :

On n'a pas encore trouvé de relation entre les anticorps neutralisants et les anticorps d'autres techniques.

Pour certains auteurs ce que l'on pense être une neutralisation est en fait une agglutination, entraînant ainsi un blocage de l'effet de l'antigène.

sujets atteints du trachome, dans différentes régions du monde, sur le mode endémique. Ils donnent des follicules conjonctivaux bénins chez le singe. 100 à 1000 EID 50 sont nécessaires pour infecter ce singe.

- Les classes DEF d'autre part les organismes sont tous isolés du tractus génital, dans des régions endémiques ou non endémiques (on insère dans ce groupe les souches isolées au niveau de l'oeil dans les régions non endémiques). Ils donnent des lésions folliculaires plus sévères chez le singe. On peut infecter cet animal par une dose de 1 à 10 EID 50.

c) Conclusions :

Bien que cette méthode ait été la première à nous apporter une telle classification, elle est maintenant dépassée par l'immunofluorescence qui, comme nous l'avons vu est plus précise et demande beaucoup moins de matériel et de temps. D'autre part, la mort de la souris apparaît souvent par choc anaphylactique et la dose de microbes limite qui entraîne pas la mort de l'animal est très difficile à préciser. Néanmoins, nous verrons que ce test est d'une bonne utilité dans le domaine des expérimentations sur la vaccination.

3 Test de microagglutination :

a) Principe de la méthode

Il peut y avoir agglutination lorsqu'on met en contact un antigène et un sérum immun. BERNKOPF (1960) a utilisé ce test après traitement de l'antigène au fluorocarbonate et incubation avec l'immunsérum pendant 24 heures à 37°. Le microscope permet de visualiser la positivité de la réaction.

b) Résultats :

Sur toutes les observations relevées jusque maintenant, le pourcentage de positivité chez les sujets atteints de trachome actif semble très élevé (76 % selon FELICI et VOZZA en Erythrée). Le nombre des réactions faussement positives est très petit. Mais aucune relation entre le taux des anticorps agglutinants et le stade de la maladie n'a encore été observé. La relation des anticorps avec immunité est mal connue.

4 Signalons l'utilisation rare de l'hémagglutination indirecte et celle toute récente de l'immunodiffusion dans l'agar.

R E P O N S E I M M U N I T A I R E

A REPOSE HUMORALE :

1) Anticorps circulants :

- Réponse antigénique à des injections répétées d'agents TRIC chez le lapin, titrée par la méthode de fixation du complément (51)
étude

Cette est basée sur les travaux de MOGG, COLLIER et HARRIS. L'expérimentation est faite sur le lapin qui va subir 3 injections successives d'agents TRIC. La purification des souches est faite par centrifugation et traitement par le KCl. Les germes sont dilués, puis tués par ultrasons ; Leur mort est confirmée par 3 passages successifs sur sac vitellin.

7 lapins adultes de 4 kgs subissent une première injection, puis une seconde à la 12ème semaine. 4 animaux subissent la 3ème injection à la 25ème semaine, les 3 autres animaux à la 36ème semaine. On saigne l'animal à des temps connus. On dose le taux d'anticorps et on détermine la nature des immunoglobulines. Les anticorps sont révélés par la méthode de fixation du complément.

Après l'inoculation initiale, le titre s'élève rapidement pendant la 1ère semaine, avec un maximum à la 4ème semaine, puis décline rapidement.

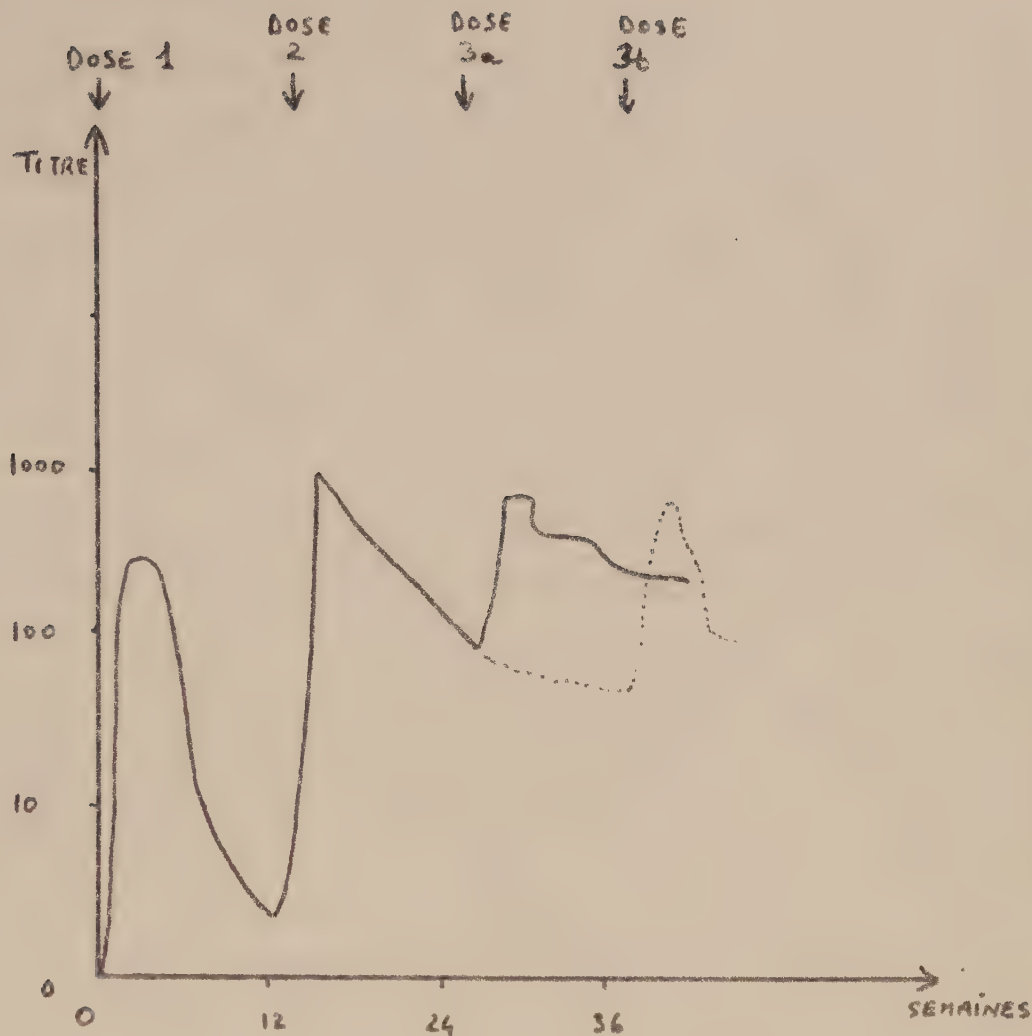
Après les injections suivantes, les maxima sont sensiblement au même titre, mais sont atteints plus rapidement et décroissent plus lentement (tableau 10).

Les immunoglobulines sont représentées par des IgM et des IgG. Les IgM sont plus importantes pendant la première semaine qui suit l'injection, et ensuite ce sont les IgG mais les différences sont très étroites. Quantitativement et qualitativement, les réponses ressemblent à celles induites par les bactéries GRAM- et les rickettsies surtout par le fait que les IgM persistent longtemps ; c'est ce qui fait dire aux auteurs que l'antigène serait une lipoprotéine saccharidique.

- Réponse antigénique à des injections répétées chez la souris de plusieurs souches d'antigènes, titrée par la microimmunofluorescence (76).

Ces expérimentations ont été effectuées par WANG. Il utilise la souris. Les réactions ont obtenu par la microméthode d'immunofluorescence. On inocule l'animal par voie I. V. une fois par semaine pendant 5 semaines. 3 souches ont été utilisées, une souche de chaque classe A, B, et C (G 17-TW 5 - TW 3) du groupe TRIC.

Il faut attendre le 10ème jour pour avoir un pic, c'est à dire 3 jours après la 2ème immunisation.



TABEAU 10 : COURSE de la RÉPONSE ANTIGÉNIQUE
 AU COURS de 4 INJECTIONS SUCCESSIVES
 d'ANTIGÈNES CHEZ LE LAPIN
 (SELON MOSG, COLLIER, HARRIS).

Le pic persiste pendant 5 semaines en plateau à condition d'injecter toutes les semaines. Ce taux d'anticorps n'augmente pas avec les injections suivantes. Dans cette xpérimentation chaque souche a été injectée à des animaux différents (tableau 11).

WANG a injecté au même animal 2 souches à des temps variables dont les résultats figurent sur le tableau 12.

- Réponse antigénique à l'injection d'agent LGV chez le singe, titrée par immunofluorescence (33)

ISA en 1968 a publié une étude détaillée sur les répartitions des immunoglobulines au cours d'infections expérimentales chez des volontaires avec des agents chlamydiaceae. Il en résulte que l'activité des anticorps est d'abord représentée par des IgG et des IgA, La fraction IgM n'a pas été rencontrée avant 13 jours et après 2 ans suivant l'infection.

Dans une nouvelle étude, Isa inocule l'agent LGV à des singes soit par voie intraoculaire, soit par voie I. M. ; Les sérums sont prélevés à trois jours d'intervalle. Par l'injection intraoculaire, on ne révèle que des anticorps IgG ; Ils apparaissent à la 1ère semaine suivant l'inoculation et persistent à un titre élevé pendant 20 semaines. L'immunofluorescence ne permet pas de détecter de fraction IgM (tableau 13).

Après l'injection I. M., Les résultats sont les mêmes: On ne voit apparaître que la fraction IgG après une semaine suivant cette injection, et pas de trace de

<u>ANTIGÈNE</u>	<u>JOUR 0</u>	4	7	10	14	21	28	35	<u>ANTISÉRUM</u>
<u>G 17 (A)</u>	0	32	16	128	128	128	128	128	A
	0	0	0	0	0	16	0	0	B
	0	0	0	16	16	32	32	16	C
<u>TW 5 (B)</u>	0	0	0	0	0	0	0	16	A
	0	16	0	128	128	128	128	128	B
	0	0	0	0	0	0	0	16	C
<u>TW 3 (C)</u>	0	0	16	32	64	64	128	64	A
	0	0	0	0	0	0	16	16	B
	0	64	64	256	256	256	256	256	C

TAB. 11 : TITRE des RÉACTIONS HOMOLOGUES et HÉTÉROLOGUES
 POUR LES CLASSES A, B et C, APRÈS INJECTIONS
 SUCCESSIVES. (D'après WANG et GAYSTON)

IMMUNISATIONS
 1^{ère} 2^{ème}
 (jour)

SÉRUM
 (jour)

		SÉRUM			FRACTIONS		
		A	B	C	19 S		
					A	B	C
B	-	(9)	0	256	0	16	0
B	-	(7)	0	32	0	4	0
B	A (7)	(10)	32	64	8	8	0
B	-	(14)	0	32	0	-	-
B	A (14)	(17)	64	128	16	16	0
B	-	(21)	0	32	0	-	-
B	A (21)	(24)	64	64	4	2	0
A	-	(4)	32	0	0	-	-
A	-	(7)	16	0	4	0	0
A	B (7)	(10)	32	64	4	16	0
A	-	(14)	16	0	0	-	-
A	B (14)	(17)	64	128	8	8	0
A	-	(21)	8	0	0	-	-
A	B (21)	(24)	32	64	0	4	0

TABLERAU 12: INJECTIONS RÉPÉTÉES DE 2 SOUCHES CHEZ LE MÊME ANIMAL. TITRE DES RÉACTIONS ET DE LA NATURE DES IMMUNOGLOBULINES.

SEMAINES APRÈS INOCULATION	TITRES		
	IgM	IgA	IgG
0	-	-	-
1/2	-	-	-
1	-	-	-
1 1/2	-	-	-
2	-	-	16
2 1/2	-	-	32
3	-	-	32
4	-	-	256

TAB. 13: TITRE des IMMUNOGLOBULINES APRÈS INOCULATIONS
SUCCESSIVES CHEZ LE SINGE - SOUCHE CAL 204 (L.G.V.)
(d'APRÈS ISA)

IgM ou IgA.

ISA a comparé l'étude des salmonelles à celle de l'agent LGV. En ce qui concerne les salmonelles, les 3 fractions apparaissent dans le sérum aussitôt après l'injection. Ce défaut d'apparition d'anticorps IgM correspondant à l'étude faite sur l'homme (tableau 14) Au cours de cette même étude, ISA a prouvé que la méthode de l'immunofluorescence était capable de détecter de très petites quantités des 3 fractions et que le singe était capable de produire ces 3 fractions. Par contre WANG et GRAYSTON (77) chez le singe, avec l'agent TRIC, voient apparaître le IgM, au tout début de la maladie, qui décroissent pour être remplacés par les IgG.

- Conclusions :

A l'aide de l'ensemble de ces expérimentations, on remarque: l'introduction d'un agent développe l'apparition des anticorps dont les titres et les pics varient suivant la voie d'introduction, l'animal et la souche utilisés. Il en est de même des fractions d'immunoglobulines produites. La nature et le taux des anticorps varient suivant la combinaison hôte-antigène et même peut-être suivant le mode d'introduction de l'antigène. Les anticorps du sérum font une brève apparition au début de la maladie et disparaissent rapidement. De plus, leur taux n'est pas très élevé et une réinoculation n'élève pas le niveau de leur

SEMAINES APRÈS INOCULATION	TITRES					
	IgM		IgA		IgG	
	SAL	LSV	SAL	LSV	SAL	LSV
0	32	-	64	-	16	-
1/2	64	-	128	-	64	-
1	256	-	256	-	64	8
1 1/2	128	-	512	-	256	32
2	64	-	256	-	512	64
2 1/3	32	-	64	-	256	128
3	32	-	64	-	256	128
4	32	-	32	-	64	16

TABLEAU 14 : TITRE des IMMUNOGLOBULINES PRODUITES
PAR INJECTIONS SUCCESSIVES D'AGENT LSV
COMPARÉ AUX INJECTIONS de SALMONELLES.

SINGE - SOUCHE CAL 204 (L.S.V.)

titre. La question de savoir si ces anticorps ont un rôle dans la résistance à l'infection reste posée. Il semble qu'ils n'ont pas de fonction directe contre la maladie ; Ils ne représentent que le reflet de cette maladie.

Pour nous résumer, nous pouvons affirmer qu'il existe des anticorps circulants à faible taux représentés au tout début de la maladie par IgM, ensuite par des IgG, mais ceci n'est pas systématique chez tous les animaux et dépend de la souche microbienne. Le rôle de ces immunoglobulines n'est pas connu.

2) Anticorps locaux :

Il existe une sécrétion locale d'anticorps dans certaines maladies à chlamydiae, comme le trachome. Cette sécrétion permet-elle d'opposer une résistance à l'infection ?

HATHAWAY et PETERS (29) ont étudié la nature et le rôle des anticorps trouvés au niveau de l'oeil dans le trachome chez l'homme. Les sécrétions de l'oeil ont été prélevées chez des enfants atteints de trachome dans 3 régions endémiques différentes ; Elles ont été étudiées par la méthode indirecte d'immunofluorescence.

Trois classes d'immunoglobulines ont été identifiées : IgG, IgA et IgE. Les IgG sont toujours à un taux supérieur aux autres immunoglobulines. IgA et IgE sont en plus petites quantités.

Chez le singe, WANG et GRAYSTON (77) comparent les anticorps circulants et locaux. Il n'existe pas de sécrétion locale d'anticorps que chez les singes infectés ou

hyperimmunisés. Elle reflète la production humorale, mais . . . les anticorps de l'oeil apparaissent après le début de la production humorale et disparaissent avant. Il existe localement une sécrétion d'IgG et d'IgA en plus petite quantité, mais pas d'IgM. Par contre dans le sérum les IgM apparaissent d'abord, puis il y a production d'IgG.

Chez l'homme, d'autres expérimentations ont été faites (8 - 42 - 44 - 45) et particulièrement celle d'ORFILA et BERNKOPF sur les larmes de 12 enfants trachomateux. Il en résulte qu'il existe bien une sécrétion d'anticorps locale bien distincte de la production humorale, représentée par des IgG surtout et également des IgA et des IgE, mais pas d'IgM. Nous ne pouvons pas encore tirer de conclusions quant au rôle local de ces immunoglobulines vis à vis de l'infection.

B REPOSE CELLULAIRE :

Deux parties domineront notre étude : le macrophage, élément important de l'immunité, et l'hypersensibilité retardée.

1) Etude du macrophage en présence d'un agent chlamydiae :

- Le macrophage et son rôle dans l'immunité :

C'est une grande cellule de 20 microns de diamètre, un cytoplasme clair, parfois finement granuleux, riche en lysosomes. C'est une cellule du système réticulo-endothélial. Elle agit par phagocytose des éléments étrangers, les détruit et les digère. Elle a un rôle fondamental dans l'immunité, puisque c'est elle qui prend l'antigène et qui informe les lymphocytes sous forme d'antigène couplé à un ARN et ainsi les cellules lymphoïdes peuvent élaborer des anticorps.

- Matériel et méthodes utilisés généralement :

L'animal le plus souvent utilisé est la souris. Les souches microbiennes sont obtenues au moyen de "pools" de sac vitellin d'oeufs embryonnés infectés. L'animal est inoculé par voie intrapéritonéale. ON observe les macrophages de ce liquide péritonéal.

- Etude de l'inoculation de la souche AS 3 du trachome à la souris par voie intrapéritonéale :

SOLDATI, INTINI, ISETTA, GHIONE en ont fait l'étude en 1971 (64). Pour chaque expérimentation ils ont utilisé un groupe de 50 souris, infectées avec des suspensions de corps élémentaires vivants provenant

de sacs vitellins.

L'infection du sac vitellin donne l'exsudation cellulaire modérée. Elle donne avec la souche AS 3 un grand nombre de cellules qui persistent plusieurs jours. Jusque 48 heures après l'infection, on trouve un haut pourcentage de polynucléaires neutrophiles, quelques éosinophiles et des cellules du système réticulo-endothélial, comme les macrophages. Dans le cytoplasme des macrophages, on observe des inclusions semblables en morphologie et en coloration à celles du trachome. Par l'immunofluorescence, ces inclusions réagissent bien avec l'antisérum trachomateux.

On étudie ensuite les cellules chez des animaux préparés par la vaccination. L'exsudation cellulaire est différente : les polynucléaires sont moins nombreux et les mononucléaires plus nombreux; un grand nombre de ces cellules mononucléées sont représentées par le macrophage qui contient des inclusions 24 à 48 heures après l'injection, donc qui phagocyte plus rapidement et plus abondamment. Et l'agent disparaît plus vite du péritoine (tableau 15).

COLLIER (1967) a étudié l'exsudation conjonctivale provenant de l'oeil humain affecté par le trachome.

On trouve une similitude quant aux résultats à savoir:

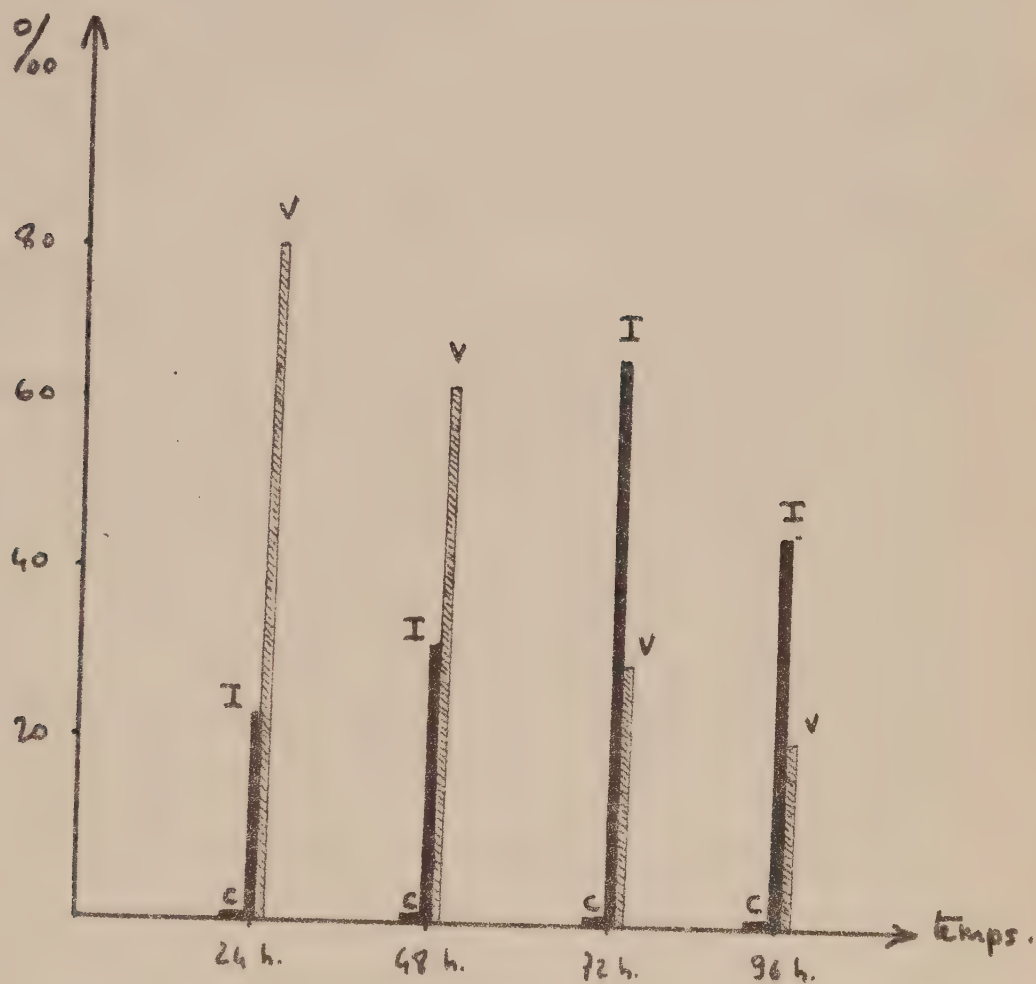
- le 1er stade de la maladie est caractérisé par une exsudation surtout formée de polynucléaires.
- Le 2ème stade voit apparaître une réduc-

MACROPHAGES
CONTENANT DES INCLUSIONS
DANS LE CYTOPLASME

C = CONTRÔLE SOURIS SAIN.

I = SOURIS INFECTÉE.

V = SOURIS VACCINÉE.



TABEAU 15 d'APRÈS SOLDATI, INTINI, ISETTA, GHIONE

tion de leur nombre et une augmentation franche des lymphocytes, des plasmocytes et des macrophages et ceux-ci persistent longtemps.

- Action de l'antigène infectant sur le macrophage :
BLHYTH et TAVERNE? Ainsi que CASAZZA, en ont fait l'étude avec des agents TRIC.

ORFILA et LEPINAY (57) avec l'agent de l'ornithose.
DROBYSSHEVSKAYA (21) avec l'agent de la méningo-pneumonie de nombreux auteurs se sont penchés sur ce problème.

Il en résulte de ces études que les macrophages se lysent très rapidement et que les dégâts cellulaires sont très importants ; Ce phénomène ne se produit pas obligatoirement pour des cellules d'autres lignées. Cette dégénération cellulaire s'effectue même si les inclusions sont présentes en petit nombre. Il semble improbable que ce degré de destruction cellulaire résulte de l'action directe des microorganismes. Il est permis de penser que le facteur responsable soit une toxine bien qu'une telle substance n'ait jamais encore été isolée.

Nous savons que les chlamydiaceae contiennent un lipopolysaccharide. D'autre part, la facilité de ces organismes pour tuer la souris après une telle injection I. V., fait penser à la possibilité d'existence d'une endotoxine ressemblant à celle des bactéries gram -. De telles endotoxines endommagent les cellules phagocytaires et induisent la libération

d'enzymes lysosomiales qui entraînent la lyse cellulaire et la production de produits toxiques. BLYTH et TAVERNE attribuent une telle action toxique à l'agent du trachome vis à vis du macrophage et montrent ainsi que les cellules épithéliales conjonctivales sont détruites par l'action des toxines libérées. Les tissus permettant la multiplication des microorganismes seraient composés de cellules pauvres en lysosomes.

Au cours de leurs expérimentations concernant l'ornithose, ORFILA et LEPINAY (58) étudient la réceptivité et la sensibilité du macrophage. Dans un premier temps, les auteurs observent l'influence des différents facteurs sur ce macrophage et ce qui paraît important, c'est qu'en présence d'un immunsérum, la capacité de phagocytose augmente et le pourcentage de cellules parasitées augmentent également. Dans un 2ème temps, les macrophages sont comparés à d'autres souches cellulaires comme la cellule HeLa ou la cellule ERK. Il se trouve que les macrophages éclatent et sont brutalement détruits à la 48ème heure alors que les autres souches cellulaires ne présentent pas d'altération cytolitique. ORFILA et LEPINAY expliquent cette destruction des macrophages par la même hypothèse que BLYTH et TAVERNE, à savoir existence possible d'une toxine à laquelle les macrophages seraient particulièrement sensibles. Il reste à expliquer cette sensibilité. D'autre part le macrophage lui-même est plus ou moins réceptif aux différents agents. ORFILA et LEPINAY montrent que le macro-

phage de souris et moins réceptif à l'agent du trachome qu'à celui de l'ornithose.

- Conclusions :

Le macrophage a un rôle de digestion de l'antigène et également d'information pour les lymphocytes. Ce rôle primordial dans l'immunité n'existe plus puisque le macrophage est détruit. Ceci peut expliquer la pauvreté des phénomènes immunologiques dans les maladies à agents chlamydiaceae.

Il reste à expliquer pourquoi ces macrophages sont plus sensibles que d'autres cellules à ces agents et pourquoi ils sont plus ou moins réceptifs aux différents agents.

2) Hypersensibilité retardée :

a) Généralités:

L'hypersensibilité retardée est en opposition avec l'hypersensibilité de type immédiat en ce sens que la réaction locale après une injection intradermique n'apparaît que 24 à 48 heures après. Le 2ème caractère de ce type d'hypersensibilité est qu'elle donne une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Il y a absence d'anticorps décelable. C'est le dépôt de ces cellules autour de l'allergène qui donne la réaction.

Toutes les infections ne donnent pas d'hypersensibilité retardée. Nous allons voir ce qu'il en est à propos des chlamydiae.

b) Interêt de l'étude de l'hypersensibilité retardée pour les infections à chlamydiae :

L'H. R. fut d'abord démontrée sur l'agent LGV par le test de FREI en 1925.

Son étude permettra certainement de faire des progrès dans la recherche du mécanisme immunitaire et de la pathogénie des infections à chlamydiae.

- QUO, WANG, et GRAYSTON (39) ont proposé un modèle expérimental. in vivo par test cutané, concernant le trachome, que nous développerons ci-dessous.

- D'autre part, l'H. R. peut être étudiée par

des méthodes in vitro.

- KASSIRA se sert de l'H. R. comme moyen de diagnostic étiologique des souches de chlamydiae.
- Enfin, l'H. R. est responsable des manifestations locales de la maladie, selon bon nombre d'auteurs.

C) Etude de l'H. R. sur le cobaye avec l'agent du trachome :

Cette étude a été faite par KUO, WANG et GRAYSTON (39). Le cobaye est choisi pour l'expérimentation car il est un des meilleurs animaux pour l'étude de l'H. R. Les organismes sont cultivés sur oeufs ou sur cellules. On pique l'animal par voie I. D. Huit heures après l'injection, on voit apparaître un érythème et une induration locale de la peau qui disparaissent lentement en 32 à 48 heures. Histologiquement on voit une infiltration de cellules mononucléaires, alors que la réaction de type immédiat présente un oedème peu durable et une infiltration de polynucléaires.

L'H. R. se trouve être une réaction de groupe. On peut obtenir une réaction de sous-groupe entre l'agent de la psittacose et l'agent LGV par l'utilisation d'extraits acides d'antigène. Ceci a été déjà démontré chez le lapin. Ici, les auteurs démontrent la différenciation en sous-groupe A (TRIC, LGV) et

sous-groupe B (psittacose) par les extraits acides, et ceci correspond bien à la classification de GORDON basée sur la morphologie de l'inclusion et le dépôt de glycogène.

d) Test de transformation lymphoblastique :

LANDSTEINER et CHASE (40) ont montré les premiers que l'H. R. pouvait être passivement transférée d'animaux sensibilisés à des animaux normaux au moyen d'un exsudat péritonéal ou de cellules lymphatiques.

Depuis, plusieurs techniques in vitro ont été développées. On utilise couramment la migration du macrophage (20), la transformation lymphoblastique (56) ou la destruction de "target cells" (61).

Quand les lymphocytes sensibilisés d'individus ayant une hypersensibilité sont exposés à un antigène sensibilisant en culture de tissu, on voit une transformation caractéristique de la morphologie du lymphocyte : c'est la blast-transformation. On fait une mesure de la synthèse du DNA par le marquage de la thymidine ou du C^{14} ou H^3 ; Cette mesure quantitative du DNA total synthétisé est une indication sensible de la transformation. KUO, WANG et GRAYSTON (39) ont présenté une microculture de lymphocytes de sang périphérique, ce qui permet de préserver un grand nombre d'animaux et de tester beaucoup d'antigènes à la fois. Les résultats de cette technique sont en accord avec ceux obtenus par les tests cutanés in vivo. C'est à

dire qu'on retrouve des réactions de groupe et de sous-groupe par les extraits acides ; Mais il est possible par cette méthode de montrer les différences de sous-groupe avec des organismes entiers non chauffés. Cette étude montre aussi que le composant actif de l'allergène du trachome est une protéine stable à la chaleur, résultat également obtenu par le test cutané (KUO 1971).

e) Différenciation des souches par l'H. R. :

Pour KASSIRA (37) les médiocres résultats obtenus par le test cutané, pour prouver la spécificité d'une souche, sont dus aux méthodes de préparation des antigènes. Cet auteur prépare l'antigène à partir d'embryons de poulet infectés par voie allantoïdienne. L'animal utilisé est le cobaye. Le principe est de mesurer le diamètre ou la surface de la réaction érythémateuse en mm^2 .

On remarque que les réactions homologues sont de plus grande surface que les réactions hétérologues. Deux explications sont possibles :

- ou il existe un antigène spécifique de chaque souche
- ou chaque souche peut posséder la même composition antigénique, mais varier quant à la concentration d'un antigène par rapport aux autres.

f) Rôle possible de l'H. R. dans la maladie :

Le singe Taiwan (*Macacus cyclopis*) malgré une vaccination avec l'antigène TRIC a développé un pannus à la suite de l'inoculation de l'agent TRIC dans les yeux.

D'autre part, le singe est moins sensible à la maladie que l'homme. Ce premier fait, qui n'avait pas ^{été} encore observé jusque maintenant prend encore plus d'importance.

Les études de WANG et GRAYSTON (27 - 73) démontrent qu'une maladie progressive ~~et~~ chronique est obtenue en inoculant au singe l'agent TRIC, mais seulement dans une proportion faible de cas. Au cours d'expérimentations sur ces animaux, les auteurs ont remarqué que les singes inoculés la première fois ne développent pas de pannus, alors que parmi 111 animaux vaccinés avec l'agent TRIC, 15 développent un pannus après inoculations successives dans l'oeil.

Les auteurs ont conclu que le pannus chez le singe est un phénomène d'hypersensibilisation et que la maladie n'est obtenue qu'après réinfection. Le trachome serait selon les auteurs une maladie de réinfection. L'hypersensibilisation serait à la base de la pathogénie de la maladie.

REINHARDS (60) et GUPTA expliquent ainsi le fait que les filles et les mères développent plus souvent et plus sévèrement le trachome que les hommes, car

celles-là sont toujours en contact avec la source d'apport microbien qu'est l'enfant et les réinfections sont plus fréquentes dans le sexe féminin. Il est également vrai qu'un malade trachomateux transféré dans un autre pays non endémique guérit facilement du trachome ; De même, les cas transmis dans des pays non endémiques sont beaucoup moins sévères. On peut ainsi expliquer une nouvelle fois ce fait par la sensibilisation.

Alexander et CHIANG (2) inoculent à des guenons enceintes l'agent TRIC ; Il n'a pas été trouvé de conjonctivite chez le nouveau-né. Ils ont ensuite inoculé dans les yeux de ces jeunes, à l'âge de 7 mois, l'agent TRIC. 6 fois sur 9 un pannus sévère se développait. Ces auteurs concluent qu'il y a eu sensibilisation.

NICHOLS (56) démontre qu'en Arabie séoudite parmi les enfants vivant dans les meilleures conditions, les inclusions disparaissent des yeux trachomateux relativement tôt, alors que dans les villages à conditions de vie primitives, leur disparition est moins évidente et dans un certain nombre de cas, il y a même aggravation clinique. La conversion des cas positifs en cas négatifs est de 27,7 pour cent dans les villages et de 2,3 pour cent dans les villes. L'auteur pense également à la sensibilisation pour expliquer ces faits.

Enfin, il est fort possible que l'interférence d'agents différents du trachome joue un rôle dans cette hypersensibilisation.

g) Conclusions :

On a pu voir les méthodes in vivo et in vitro permettant d'étudier l'H. R.

On a pu découvrir qu'elle permettait de différencier les sous-groupe et qu'elle pouvait être un moyen de diagnostic étiologique par test cutané chez le cobaye.

Mais le plus intéressant est le fait qu'elle pourrait expliquer en partie la pathogénie de la maladie.

EXPERIMENTATIONS SUR LA VACCINATION.

L'état actuel des connaissances en matière de sérologie-immunologie est superposable en matière de vaccination. La maladie naturelle développe peu de phénomènes immunologiques, on ne peut donc pas s'attendre à une vaccination très efficace. C'est sur le trachome que tous les efforts ont été réunis, car la mise au point d'une vaccination devient urgente. Les expérimentations ont été entreprises dès que les agents du trachome ont pu être classés en souche et qu'un meilleur isolement a été possible.

EXPERIMENTATIONS CHEZ L'HOMME ET LE SINGE :

- 1) FELICI et VOZZA ont expérimenté la vaccination contre le trachome pour la première fois en 1960, à la fois sur l'homme et le singe, en étudiant l'action de 3 vaccins :
 - en solution aqueuse
 - en émulsion huileuse
 - adsorbé avec $Al(OH)_3$.

Les vaccins se sont montrés actifs ; Il s'est produit une élévation du taux des anticorps fixant le complément, mais il n'a pas été remarqué de corrélation entre ce taux et le degré de protection.

- 2) La même année, GRAYSTON inocule à des volontaires des corps élémentaires adsorbés avec $Al(OH)_3$. Les anticorps fixant le complément s'élèvent à un taux plus important

que par l'inoculation avec des corps élémentaires non adsorbés. Des sujets vaccinés développent une maladie moins grave que les sujets non vaccinés. Cette protection a également été démontrée sur 4 singes.

3) COLLIER en 1961 obtient une immunité presque totale chez le singe en injectant, par voie S. C. et I. V., du vaccin vivant.

4) Une étude intéressante de GRAYSTON (1962) nous montre l'effet de la vaccination chez 6 volontaires. 3 d'entre eux servent de témoin. Les 3 autres reçoivent le même vaccin en 6 injections 2 mois après le début de la maladie. Chez ces sujets vaccinés l'infection reste unilatérale et guérit après un mois de traitement. Chez les témoins, l'infection devient bilatérale et subit une réactivation après l'arrêt du traitement.

5) SCOTT en 1964 observe sur un volontaire d'Afrique du Sud une immunité totale contre des doses massives d'agent du trachome, après vaccination par des agents vivants inoculés par voie parentérale.

6) Mais ce furent WANG, GRAYSTON et ALEXANDER qui réalisèrent les plus nombreuses et les plus intéressantes expérimentations, particulièrement chez le singe. Ils observèrent les choses suivantes :

- La protection n'est constatée qu'avec des vaccins huileux. Les résultats sont décevants avec l'Al.
- L'utilisation de vaccins insuffisamment concentrés augmente la sensibilité à la maladie.

- Une concentration à 10^9 corps élémentaires par mm^3 apparaît nécessaire pour obtenir une protection valable.
- Des vaccins hautement purifiés par sédimentation en gradient de glucose ou par extraction par le fluorocarbure ont une activité comparable aux vaccins bruts.
- L'addition de formol à 0,02 %, qui inactive l'agent, n'a pas d'effet notable sur la valeur du vaccin brut ou purifié.
- La protection conférée par une souche de vaccin est apparue comme très spécifique vis à vis de cette souche, ou des autres souches appartenant au même type immunologique défini par le test de prévention de l'effet toxique chez la souris.

7) Toutes ces observations et ces expérimentations sont réunies dans un ouvrage élaboré en 1967 par BIETTI et WERNER. Les auteurs tirent les conclusions suivantes :

- (11) - Il y a possibilité d'utiliser des vaccins polyvalents. Ce problème est relatif aux relations antigéniques entre les différentes souches responsables de la maladie dans différentes régions endémiques.
- On ne peut pas comparer les résultats entre les vaccins inactivés et les vaccins vivants, car les expérimentations avec ceux-ci sont peu nombreuses et difficilement réalisables.

- Le fait que l'agent TRIC soit faiblement antigénique suggère que le vaccin doit être préparé à une haute concentration en corps élémentaire.
- Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la suspension huileuse.
- La voie parentérale doit être utilisée, car la voie conjonctivale n'entraîne pas un état d'immunité suffisant.

8) Tout récemment, GRAYSTON, Kim, ALEXANDER et WANG ont testé des vaccins monovalents et trivalents chez le singe. Les vaccins ont été préparés dans les conditions les meilleures, c'est à dire en émulsion huileuse, avec des corps élémentaires purifiés poussés sur sac vitellin, avec une concentration minimum de 10^9 corps par mm^3 (cette concentration a été calculée à partir des expérimentations de WANG (1967) qui montrent que pour le singe il faut 3 logs de plus de particules que pour la souris).

Le vaccin monovalent contenait un agent de la classe B. Le vaccin trivalent contenait un agent de la classe A, un agent de la classe B et un agent de la classe C. Les singes immunisés par le vaccin monovalent voient leur protection diminuer à 9 mois et disparaître en 2 ans. L'effet protecteur contre une souche hétérologue est nul. Ces résultats sont comparables à ceux observés par WOOLRIDGE (78) et DHIR chez l'homme. Ce vaccin monovalent type B n'immunise pas contre une maladie contractée avec une sou-

che de type C. Par contre les relations antigéniques entre les types A et C ont été confirmées (mêmes résultats par l'immunofluorescence et l'effet toxique chez la souris). Il ne faut pourtant pas conclure qu'un vaccin bivalent B-C serait suffisant pour vacciner contre toutes les souches A, B et C.

9) De nombreuses autres expérimentations (5 - 19 - 69 - 71 - 78 -) ont été étudiées.

D'autre part, les vaccinations massives dans des régions endémiques ont été entreprises. Les résultats varient suivant ces régions, mais plusieurs enseignements peuvent en être tirés :

- L'efficacité du vaccin est certaine.
- Le vaccin a un pouvoir à la fois préventif et thérapeutique.
- Le taux d'efficacité n'est pas souvent très élevé. Plusieurs études sont contradictoires.
- L'immunité dure le plus souvent 2 ans, les années suivantes les résultats sont très controversés.
- L'association du vaccin et des antibiotiques donner de meilleurs résultats sur le plan thérapeutique que l'un ou les autres administrés isolément.

B . CONCLUSIONS :

L'étude des phénomènes immunologiques a apporté beaucoup à l'élaboration d'une vaccination. Mais ces phénomènes

immunologiques sont à la fois pauvres et mal connus. De plus, les expérimentations sur la vaccination n'ont apporté que peu d'éléments nouveaux quant à cette faiblesse immunitaire. Ces résultats sont décevants, mais laissent néanmoins l'espoir de voir naître une vaccination efficace bien qu'à notre avis, les populations vaccinées et qui sont immunisées ou guéries du trachome, ne sont pas à l'abri de réinfestations, puisqu'elles sont dans des régions endémiques et ceux-ci rejoint les théories exposées dans le chapitre de l'hypersensibilité retardée.

CONCLUSIONS GENERALES.

Cet essai de mise au point sur les réactions immunologiques au cours des infections à chlamydiae nous permet de tirer quelques conclusions.

Deux éléments principaux ont permis une meilleure connaissance des phénomènes immunologiques : d'une part, l'immunofluorescence et d'autre part, l'amélioration des techniques d'isolement et de purification.

Il est maintenant possible de faire une classification sérologique des agents et des souches du groupe PLT en sous-groupes et en classes selon les relations antigéniques entre les souches.

La réponse humorale antigénique à l'introduction naturelle ou expérimentale d'un agent chez l'homme ou les animaux présente quelques caractéristiques : : elle dépend de cet agent, de l'hôte, et du mode d'introduction, mais elle est toujours faible et de courte durée ; La réinoculation n'élève pas le titre des anticorps. Il existe des anticorps circulants qui sont des Ig M et des IgG, ainsi que des anticorps locaux qui sont représentés particulièrement par des IgA et des IgE.

L'ensemble de ces anticorps à taux peu élevé et d'apparition brève ne semblent pas pouvoir représenter un système de défense valable contre la maladie naturelle ou expérimentale.

Le macrophage, cellule importante du système immunitaire est plus ou moins réceptif selon l'agent et l'animal-hôte, et se lyse rapidement dans de nombreux cas, par l'action vraisemblable d'une toxine. Celle-ci n'a pas encore été isolée et on ne sait pas pourquoi le macrophage est sensible à ce phénomène. Ceci pourrait expliquer la pauvreté des phénomènes immunologiques dans les maladies à agents chlamydiae.

Ces maladies donnent une hypersensibilité retardée. Celle-ci pourrait être dans l'avenir un moyen de diagnostic. Bon nombre d'auteurs estiment qu'elle joue un rôle dans la pathogénie de l'infection en créant des lésions organiques par réinfections successives surtout dans les régions endémiques.

De grands progrès ont été faits depuis un peu plus de dix ans. Mais il reste beaucoup de choses à prouver ou à découvrir pour bien comprendre les phénomènes immunologiques. Sans cela, il sera très difficile de mettre au point une vaccination efficace pour lutter contre les infections à chlamydiae et particulièrement contre le trachome qui fait 400 millions de victimes dans le monde.

B I B L I O G R A P H I E

1. ALEXANDER, E. R., WANG, S. P. and GRAYSTON, J. T. (1967) :
Further classification of TRIC agents from ocular trachoma and other sources by the mouse toxicity prevention test - amer. J. Ophthal. 63, 1469.
2. ALEXANDER, E. R. and CHIANG, W. T. (1967) - Amer. J. Ophth. 63, 1145/1153.
3. ARMSTRONG, J. A., VALENTINE, R. C., FILDES, C. (1963) :
Structure and replication of the trachoma agent in cell cultures, as shown by electron microscopy - J. G. en. M. Microbiol. 30, 59 - 73.
4. AMSTRONG, J. A., REED, S. (1964) : Nature and origine of initial bodies in lymphogranuloma venereum - Nature, 201, 4917, 371 - 373.
5. BABUDIERI, B. (1966) : La Vaccinazione contro il trachoma - Reev. Int. et trachom. 43, 196 - 200.
6. BERNKOPF, H. MASHIAH, P. (1962) : The growth cycle of a trachoma agent in F. L. cell cultures - J. immunol. 88, 570-571.
7. BERNKOPF, H., TREU, G. and MAYTHAR, B. (1964) - Am. J. ophtal. 71, 693.
8. BERNKOPF, H. ORFILA, J. and MAYTHAR, B. (1966) : Fluorescent antibodies in the fluid of the conjunctival sac of trachoma patients - nature (london), 209, 725.

9. BERNKOPF, H., ORFILA, J., BABUDIERI, B., (1966) : Review on sérology and immunology of trachoma - Rev. Int. Trachom. 43, 8 - 26.
10. BIETTI, G., B., BUOGO, A., GHIONE, M. and MILANO, C. (1967) : Squin réactions with séveral trachoma antigénes - amer. J. ophtal., 63, 1513.
11. BIETTI, G. B., WERNER, G. R., (1967) : Trachoma prévention and treatment. C. C. THOMAS publ. SPRINGFIELDS.
12. BURNET, F. M. (1969) Antibody production, 189 - 212 edit : BURNET, MELBOURNE.
13. CHANG, Y. T., (1964) : Long term cultivation of mouse péri-tonéal macrophages - J. Nat. cancer. Inst. 32, 1 - 19.
14. CHASE, M. W. (1959) : models for hypersensitivity studies - edit : H. S. LAWRENCE.
15. COLLIER, L. H., SOWA, J. (1958) : isolation of trachoma virus in embryonated eggs - Lancet 1, 993 - 996.
16. COLLIER, L. H. and SMITH, A. (1967) - amer. J. ophthal. 63, 1589;
17. COONS, A. H. (1956) - Int. Rev. cytol. 5, 1.
18. CROWLE, a. J. (1962) Delayed hypersensitivity in health and diseases - G.C. THOMAS, SPRINGFIELD.
19. DAGHFOUS, T. (1965) Traitement et prophylaxie actuels du trachome - Rev. int. trachom. 42, 434 - 441.

20. DAVID, J. R., LAWRENCE, G. S. THOMAS, L. (1964) - J. Immunol 93, (264, 274, 279).
21. DROBYSHEVSKAYA, A. I., PIGAREVSKY, V. E. and SMORODINTSEV, A. A. (1962) - Acta virol. 6, 458.
22. ERLANDSON, R. A., ALLEN, E. G. (1964) The ultrastructure of méningo-pneumonitis - virol. 22, 410 - 418.
23. FAN, V. S., J ENKIN, H. M. (1970) Glycogen metabolism in chlamydiae infected heLa cells - J. Bacteriol. 104, 108, 109.
24. GORDON, F. B., QUAN, A. L. and TRIMER, R. W. (1960) Morphologic observations on trachoma virus in cell cultures - Science, 131, 733.
25. GORDON. F. B., QUAN, A. L. (1965) Occurence of glycogén in inclusions of the psittacosis - lymphogranuloma véne-reum - trachoma agents - J. inf. dis. 115, 186 - 196.
26. GRAYSTON, WOOLRIDGE, KHAWWIOF, TAY, LIN and WANG (1961) Chim. Med. J, 8, 307.
27. GRAYSTON, J. T., WANG, S. P., WOOLRIDGE, R. L. and ALEXANDER R. F. (1964) - Arch. environm. HLTH, 8, 518 - 526.
28. HANNA, L. and BERNKOPF, H. (1964) Trachoma viruses in united States. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med, 116, 827.
29. HATHAWAY, A., PETERS, J. H, (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - Excepta Medica - Boston (1970) - 260 - 271.

30. HILLEMAN, M. R., ASTON, A. B, VERNER, J. H. (1958) Group specificity of psittacosis - lymphogranuloma venereum group Skin test antigens in lymphogranuloma venereum patients - J. Lab. Clin. Med, 52/1, 53.
31. HOSAKA, Y., NISCHI, Y. (1962) Structure of méningo-pneumonitis, virus particles. - BiKen's 5, 21 - 28.
32. ISA, A. M., HANNA, L., LINSKOTT, W. D. and JAWETZ, E. (1968) Experimental inclusion conjunctivitis in man - J. Immunol 101, 1154.
33. ISA, A. M., (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents -Excepta Médica - Boston.
34. JENKIN, H. M. (1960) - Préparation and properties of cell walls of the agent of meningo-pneumonitis - J. Bact, 80, 639 - 647.
35. Jones, Collier, Smith (1959) - the lancet. 1, 902.
36. KASSIRA, E. N. (1970) Delayed - type hypersensitivity in guinea pigs as an aid to differenciation of chlamydial agents - thesis.
37. KASSIRA, E. M. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - Excepta Médica - Boston.
38. KATZENELSON, E., and BERNKOPF, H. (1965) J. Immunol. 3, 94.
39. KUO, C. C., WANG, S. P. and GRAYSTON, J. T. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamudial agents - Excepta Medica - Boston.
40. LANDSTEINER, K. CHASE, M. W. (1942) - Proc. Soc. Exp. BIOL. Med.- 49, 688.

41. LITTLE, J. M., CENTIFANTO, Y. M. and KAUFMAN, H. E. (1969) Immunoglobulins in human tears - Amer. J. Ophthal., 68, 398.
42. LITTLE, J. M., CENTIFANTO, Y. M. and KAUFMAN, H. E. (1969) Amer. J. Epidemiol. 90, 278.
43. LITWIN, J. (1962) GROWTH CYCLE of Trachoma in the embryo-nated egg - Ann., N. Y. Acad. Sci. 98, 145 - 162.
44. MC. COMB, D. E., NICHOLS, R. L. (1969) Amer. Epidemiol., 90, 278.
45. MC. COMB, D. E. and NICHOLS, R. L. (1970) Antibody type specificity to trachoma in eye secretions of saudi arab children - Infect. Immunol., 2, 65.
46. MANIRE, G. P. (1966) Structure of purified cell wall of dense forms of meningopneumonitis et organsims. J. of bact., 91, 409 - 413.
47. MANIRE, G. P. and TAMURA, A. (1967) Preparation and chemical composition of the cell walls of mature infectious dense forms of meningopneumonitis organisms - J. Bact.; 94, 1178 - 1183.
48. MATSUMOTO, A., MANIRE, G. P. (1970) Electromicroscopique observations of the fine structure of cell walls of chlamydia psittaci - J. Bact. 104, 1332 - 1337.
49. MILLS, J. A. (1966) The immunologic. significance of antigen - induced lymphocyte transformation in vitro - J. Immunol., 97, 239.

50. MITSUI, Y., FUJIMOTO, M., KAJIMA, M. (1964) development and morphology of trachoma agent in the yolk sac cell as revealed by electron microscopy - virology 23, 30 - 45.
51. MOGG, A. E., COLLIER, L. H., HARRIS, R. G. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - *Excerpta Medica* - BOSTON 185 - 195.
52. MOULDER, J. W. (1966) The relation of the psittacosis group to bacteria and viruses - *Ann. Rev. Microbiol.* ; 20, 107.
53. MURRAY, BELL, ANNA, NICHOLS, SNYDER (1959) - *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* 9, 116.
54. NICHOLS, R. L., MC. COMB., D. E., HADDAD, N. MURRAY, E. S. (1963) - *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 12, 223.
55. NICHOLS, R. L., BOBB, A. A., HADDAD, N. A., MC. COMB., D. E., (1967) *Amer. J. Ophthal.* 63, 1372 - 1408.
55. NICHOLS, R. L. and MC. COMB, D. E. (1964) Serologic strain differentiation in trachoma - *J. Exp. Med.* 120, 639.
56. OPPENHEIM, J. J. (1968) Relation Ship of in vitro lymphocyte transformation to delayed hypersensitivity in guinea pigs and man - *Fed. Proc.* 27, 21.
57. ORFILA, J., LEPINAY, A. (1967) - *Ann. Inst. Pasteur* 113, 19 - 27.
58. ORFILA, J., LEPINAY A. (1969) *Ann. Inst. Pasteur* 116, 111 - 120.
59. REEVE, P. and GRAHAM, D. M. (1962) a neutralization test for trachoma and inclusion Blennorrhoea viruses grown in HeLa cell cultures - *J. Gen. Microbiol.* 27, 117.

60. REINHARDS, J. (1969) - Int. Rev. Tr., 3, 211 - 296.
61. RUDDLE, N. H., WASKSMAN, B. H. (1968) - J. Exp. Med. 128, 1237, 1255, 1267.
62. SAROV, I., BECKER, Y., BERNKOPF, H. (1968) - RNA in the elementary bodies of trachoma agent - nature 217, 849 - 852.
63. SAROV, I., BECKER, Y. (1969) - Trachoma agent Dna - J. Mol. Biol. 42, 581 - 589.
64. SOLDATI, M., INTINI, C., ISETTA, A. M., GHIONE, M. (1971) - Rev. Int. Tr. 1, 31/42.
65. TAMURA, A., MATSUMOTO, A., HIGASHI, N. (1967) purification and chemical composition of reticulate bodies of the meningo-pneumonitis organisms - J. Bact. 93, 6, 2003 - 2008.
66. T'ANG, F. F., CHANG, H. L., HUANG, Y. T., WANG, K. C. (1958) Studies on the Etiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo - Clin. Med. J. 75, 429 - 447.
67. T'ANG, F. F., CHANG, H. L., HUANG, Y. T., WANG, K. C. (1957) - Clin. Med. J. 75, 429.
68. TAVERNE, J. BLYTH, M. (1971) - Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - Excepta Medica - Boston - 88 - 107.
69. TERSKIKH, J. J. (1967) - Vaccinotherapy and prophylaxis of relapses of trachoma - Rev. Int. Trach. 44, 201 - 216.

70. TRIBBY, I. E., (1970) cell wall synthesis by chlamydia psittaci growing in L cells - J. Bact. 104, 1176 - 1187.
71. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T., ALEXANDER, E. R. - Trachoma Vaccine studies in monkeys - Amer. J. Ophthal. 63, 5, 1615 - 1630.
72. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T. (1963) - J. Immunol. 90, 849.
74. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents Excepta Medica Boston - 321 - 335.
73. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T. (1967) - Pannus with experimental trachoma and inclusion conjunctivis agent infection of taiwan monkys - Amer. J. Ophthal. 63, 1133.
75. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - Excepta Medica - Boston 305 - 321.
76. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - Excepta Medica Boston 273 - 288.
77. WANG, S. P., GRAYSTON, J. T. (1971) Trachoma and related disorders caused by chlamydial agents - Excepta Medica Boston 217 - 232.
78. WOOLRIDGE, R. L., GRAYSTON, J. T. (1967) Field Trial of a monovalent and a bivalent mineral oil adjuvant trachoma vaccine in a taiwan school children - Amer. J. Ophthal. 63, 5, 1645 - 1650.

TABLE DES MATIERES.

	PAGE
- INTRODUCTION	1
- CHAPITRE 1 : Généralités sur les chlamydiaceae	2
- Taxonomie	3
- Structure et Morphologie	8
- Composition chimique	11
- Cycle de développement	13
- Mécanisme de reproduction	15
- Pathologie des principales infections	16
- Notions de traitement	21
- Méthodes de culture et de purification	22
- CHAPITRE 2 : Sérologie et Immunologie	24
- Structure antigénique	25
- Méthodes d'investigation	28
- Fixation du complément	28
- Immunofluorescence	33
- Autres Méthodes	44
- Réponse immunitaire	49
- Réponse humorale circulante	49
- Réponse locale	58
- Réponse cellulaire	60
Macrophages	60
Hypersensibilité retardée	66
- Expérimentations sur la vaccination	73
- CONCLUSIONS	79
- BIBLIOGRAPHIE	81

